



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MEXICO

**PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**RENDIMIENTO, COMPOSICION QUIMICA Y PRODUCCION DE
GAS *IN VITRO* DE DIFERENTES VARIETADES DE MAICES
HIBRIDOS EN FRESCO, HENO Y CONSERVADOS COMO
ENSILAJE CON UN ADITIVO QUIMICO Y ENZIMAS.**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

PRESENTA

MVZ JOSE ANTONIO RUIZ PEREZ

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, Marzo 2014



UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MEXICO

**PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**RENDIMIENTO, COMPOSICION QUIMICA Y PRODUCCION DE
GAS *IN VITRO* DE DIFERENTES VARIEDADES DE MAICES
HIBRIDOS EN FRESCO, HENO Y CONSERVADOS COMO
ENSILAJE CON UN ADITIVO QUIMICO Y ENZIMAS.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN
CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

PRESENTA

MVZ JOSE ANTONIO RUIZ PEREZ

COMITÉ DE TUTORES

Dr. MANUEL GONZALEZ RONQUILLO	Tutor Académico
Dr. NAZARIO PESCADOR SALAS	Tutor Adjunto
Dra. CLAUDIA GIOVANNA PEÑUELAS RIVAS	Tutor Adjunto

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, Marzo 2014

DEDICATORIAS

A DIOS

Por que siempre existirá en nuestra mente y corazón ese ser supremo que nos alienta a seguir adelante

A MIS PADRES

Por ese ejemplo, su apoyo y sus consejos a seguir siempre adelante.

A MI ESPOSA ARACELI

Por su apoyo incondicional, su confianza y dedicación durante todos estos años que llevamos juntos.

A MIS HIJOS LUIS ANGEL, JOSE ANTONIO Y DIEGO

Espero que sea un ejemplo de superación para ellos

A MIS HERMANOS

Por su apoyo, comprensión y cariño.

A UN GRAN AMIGO Y COMPAÑERO MANUEL GONZALEZ RONQUILLO

Por sus consejos y apoyo pero sobre todo por la confianza depositada para llevar a buen término esta etapa de mi vida profesional.

AMIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DEL PROGRAMA CHINO, YOATZIN, KARLA, ALEX Y PERDON POR LOS QUE NO MENCIONE.

A todos por su gran apoyo y su amistad.

A MIS COMPAÑEROS DE TRABAJO (CBTa 150)

Por su confianza y apoyo

A LOS INVESTIGADORES DEL PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO

Por su apoyo y dedicación.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico para realizar el Doctorado.

A la Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria (DGETa) por el apoyo y las facilidades otorgadas para realizar el Doctorado

A la Universidad Autónoma del Estado de México parte fundamental de mi desarrollo profesional.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por las facilidades otorgadas para realizar el trabajo de investigación

INDICE

RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	2
1. Producción de maíz en México y el mundo.....	2
2. Métodos de conservación del forraje.....	5
2.1. Ensilado.....	5
2.1.1. Uso de aditivos en los ensilados.....	7
2.1.2. Tipos de aditivos usados en el ensilaje.....	8
2.1.2.1. Aditivos para mejorar la fermentación del ensilaje.....	8
2.1.2.2. Aditivos para inhibir la fermentación del ensilaje.....	9
2.1.2.3. Aditivos que inhiben el proceso de deterioro aeróbico.....	9
2.1.2.4. Aditivos usados como nutrientes o como absorbentes.....	10
2.1.2.5. Combinaciones de aditivos.....	11
2.2. Henificado.....	11
2.2.1. Proceso de henificación.....	12
2.2.2. Tipos de henificación.....	13
2.2.3. Características del henificado.....	15
3. Composición química de los forrajes.....	16
3.1. Calidad de los forrajes.....	16
3.1.1. Factores que influyen en la calidad de los forrajes.....	16
3.1.1.1. Especie cultivada.....	16
3.1.1.2. Fertilización.....	16
3.1.1.3. Variedad del cultivo.....	16
3.1.1.4. Madurez.....	16
3.1.1.5. Cosecha y almacenaje.....	17
3.1.1.6. Medio ambiente.....	17
3.2. Composición química de los forrajes.....	17
3.2.1. Humedad.....	18
3.2.2. Materia seca.....	18

3.2.2.1. Materia orgánica.....	18
3.2.2.2. Materia inorgánica.....	19
3.3. Composición química del maíz.....	19
4. Métodos para evaluar la digestibilidad del forraje.....	21
4.1. Método <i>in vivo</i>	21
4.2. Método <i>in situ</i> o <i>in Sacco</i>	22
4.3. Método <i>in vitro</i>	23
4.4. Modelos para evaluar la degradación y fermentación de los alimentos.....	27
4.4.1. Orskov y Mc Donald (1979).....	27
4.4.2. krishnamoorthy <i>et al.</i> (1991).....	28
4.4.3. France <i>et al.</i> (1993).....	28
4.4.4. Jessop y Herrero (1996).....	29
III. JUSTIFICACION.....	30
IV. HIPOTESIS.....	31
V. OBJETIVOS.....	32
VI. MATERIAL Y METODOS.....	33
VII. LIMITE DE ESPACIO.....	37
VIII. RESULTADOS	38
8.1. ARTICULO 1 PUBLICADO Effect of the addition of enzymes in chemical composition and <i>in vitro</i> gas production of hybrid maize varieties preserved by silage in the highlands. EN ANIMAL NUTRITION AND FEED TECHNOLOGY Official Journal of the Animal Nutrition Association, India	39
8.2. ARTICULO 2 PUBLICADO Effect of the addition of acetic acid or enzymes in chemical composition and <i>in vitro</i> gas production from different varieties of native and hybrid maize silage. EN ANIMAL NUTRITION AND FEED TECHNOLOGY Official Journal of the Animal Nutrition Association, India	54
8.3 ARTICULO 3 ENVIADO Rendimiento, composición química y producción de gas <i>in vitro</i> de nuevas variedades de maíces híbridos blancos cultivados en valles altos de México...	70

8.4 ARTICULO 4 EN REVISION Rendimiento, composición química y producción de gas <i>in vitro</i> de nuevas variedades de maíces híbridos amarillos cultivados en valles altos de México	83
8.5 RESULTADOS ADICIONALES.....	97
8.5.1. Participación en eventos académicos.....	97
8.5.1. Estancia de investigación.....	97
IX. DISCUSIÓN GENERAL.....	99
X. CONCLUSIONES.....	102
XI. LITERATURA CITADA.....	103

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el rendimiento, la composición química y la producción de gas *in vitro* de 17 variedades de híbridos de maíz (11 híbridos blancos: Aspros 723, Búho, CML 457/458, Cromo, H40, H47E, H51EA, H66, H70, Hit7 y Victoria; 6 híbridos amarillos: HIT13, CML460, PIONER, COBRE, CDMO80001 y CLO80902) y dos criollos locales: un blanco (CLB) y un amarillo (CLA) cultivados en valles altos de México, en fresco, heno y conservados por ensilaje, con tres tratamientos: control (CTR), ácido acético al 1 % (AAC), o enzimas (ENZ), Sil all @ 10g/ton. Para los maíces blancos se encontraron diferencias en el rendimiento ($P < 0.05$) en fresco y en heno, con rendimientos de 60 a 117 ton/ha para fresco y de 17 a 29 ton/ha para heno respectivamente, en cuanto a su composición química (g/kg MS) mostraron diferencias ($P < 0.05$) para proteína, donde su concentración vario de 44 a 62 g/kg MS, FND de 581 a 629 g/kg MS y FAD de 297 a 344 g/kg MS; la producción de gas *in vitro* mostro diferencias ($P < 0.05$) para las fracciones b, c y lag time. No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) para la materia seca desaparecida (612 a 669 g /kg MS). Se concluye que de acuerdo con los resultados obtenidos, las variedades H51EA, H47E y CLB son superiores con respecto al resto de las variedades estudiadas. Para las variedades de maíz amarillo el rendimiento en fresco y en seco no mostro diferencias entre tratamientos ($P > 0.05$), en cuanto a su composición química (g/kg MS) mostraron diferencias ($P < 0.05$) para proteína, donde su concentración vario de 54 a 74 g/kg MS, FND de 512 a 699 g/kg MS y FAD de 287 a 338 g/kg MS; la producción de gas *in vitro* mostro diferencias ($P < 0.05$) en cuanto a tratamientos de las 3 a 18 h de incubación, no así ($P > 0.05$) para las 24 y 30 h, por variedad mostro diferencias ($P < 0.05$) a las 12 h siendo superior la variedad CLO80902 e inferior la variedad CML460; Se elaboraron micro-silos de diez variedades (n = 90), con tres tratamientos Ácido acético al 1 % (AAC), o enzimas, Sil All@10g/ton(ENZ) y control (CTR); Después de 60 días, se abrieron las micro-silos. Una vez obtenidos los resultados la matriz de datos se analizó utilizando dos técnicas multivariantes ([i] Las variables consideradas para el análisis de componentes Principales y [ii] El análisis jerárquico de conglomerados). La primera técnica multivariante se usó parareducir la información y definir los factores importantes. El análisis de conglomerados muestra la presencia de cuatro grupos con características diferentes entre los grupos: G1 como ensilados con energía (variedades H47 y Pioneer), G2 ensiladoscon proteína (variedades Cromo, H66 y Victoria), G3 ensilados de fácil degradabilidad (variedades Cobre y HIT7), y G4 ensilados balanceados (variedades Búho, H40, H70). Los tratamientos AAC y ENZ en G2, y ENZ en G3 fueron más altos en el contenido de proteína cruda (PC) que el resto de los tratamientos. Los tratamientos con ENZ en G1, G2 y G3 tuvieron el contenido más alto de fibra neutro detergente (FND) ($P < 0,01$). Los contenidos de energía metabolizable (ME) y energía neta para lactación (ENI) fueron mayores para G1 tratado con AAC, ENZ y CTR y G2 CTR que el resto de la tratamientos. El pH más bajo ($P < 0,01$) fue para G2 y G4 tratados con AAC y CTR, en comparación con G1 y

G2 tratados con AAC y ENZ. La producción de gas *in vitro* (ml gas/gMS) fue mayor ($P < 0,05$) para G3 y G4

tratados con ENZ en comparación con G1 CTR y AAC. No hubo diferencias ($P > 0,05$) en la digestibilidad de la materia seca *in vitro*, pero la digestibilidad de la FDN fue mayor ($P < 0,01$) para G1 tratado con CTR, AAC y ENZ, G2 tratado con CTR, y G4 tratado con ENZ que el resto de los tratamientos. Como conclusión, el estudio muestra que tenemos cuatro grupos, dependiendo de su concentración de nutrientes, ensilajes con energía (G1), ensilajes con proteínas (G2), ensilajes de fácil degradabilidad (G3) y ensilajes Balanceados (G4) que podemos usar como fuentes de alimentación para el ganado.

Palabras clave: bacterias ácido lácticas, composición química, producción de gas *in vitro*

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the yield, chemical composition and *in vitro* gas production of seventeen varieties of corn hybrids (11 white hybrids: Aspros 723, Owl, CML 457/458, Chrome, H40, H47E, H51EA, H66, H70, HIT7 and Victoria; 6 yellow hybrids: HIT13, CML 460, PIONER, COPER, CDMO80001 and CLO80902) and 2 native maize: white (CLB) and yellow (CLA) cropped in the high valleys of Mexico, preserved by ensiling with three treatments, control (CTR), acetic acid 1% (AAC), or enzymes (ENZ, Sill all ® 10g/ton); For white maize yield differences ($P < 0.05$) and fresh hay, with yields of 60-117 t / ha for fresh and 17 to 29 ton / ha for hay were found respectively in terms of chemical composition (g / kg DM) showed significant differences ($P < 0.05$) protein, wherein the various 44 to 62 g / kg dry matter , NDF of 581-629 g / kg DM and FAD from 297 to 344 g / kg dry matter concentration , the gas production in vitro showed differences ($P < 0.05$) fractions b , c and lag time . No differences ($P > 0.05$) for dry matter disappeared (612-669 g / kg DM) were found. It is concluded that according to the results, the H51EA , H47E and CLB varieties are superior to the rest of the varieties studied . For varieties of yellow maize yield in cool, dry showed no differences between treatments ($P > 0.05$) , in their chemical composition (g / kg DM) showed differences ($P < 0.05$) for protein , where his various concentration from 54 to 74 g / kg DM , NDF of 512-699 g / kg DM and FAD from 287 to 338 g / kg DM , the in vitro gas production showed differences ($P < 0.05$) in terms of the 3 treatments 18 h incubation , but not ($P > 0.05$) for 24 and 30 h , showed varietal differences ($P < 0.05$) at 12 h CLO80902 variety and lower still above the range CML460. Samples were performed in micro-silos (n = 90); After 60 days, the micro-silages were opened. Once the data matrix was analyzed using two multivariate techniques ([i] The variables considered for the Principal Components Factor Analysis [PCFA] and [ii] Hierarchical Cluster Analysis [CA]). The first multivariate technique was to reduce the information and generate major factors. Cluster analysis shows the presence of four groups with different characteristics between the groups: G1 as energy Silages (H47 and Pioneer varieties), G2 protein silages (Chrome, H66, Victoria varieties), G3 easy degradability Silage (Copper, HIT7 varieties), and G4 Silage Balanced (Owl, H40, H70 varieties). Treatments AAC and ENZ in G2, and ENZ in G3 were higher in crude protein (CP) content than the rest of the treatments. Treatments with ENZ in G1, G2, and G3 had the highest

neutral detergent fiber (NDF) content ($P < 0.01$). ME and NE_1 were higher for G1 treated with AAC, ENZ, and CTR and G2 CTR than the rest of the treatments. The lowest pH ($P < 0.01$) was for G2 and G4 treated as CTR and AAC, compared with G1 and G2 treated with AAC and ENZ. *In vitro* gas production (ml gas/g DM) was higher ($P < 0.05$) for G3 and G4 treated with enzymes compared with G1 CTR and AAC. There were no differences ($P > 0.05$) for *in vitro* dry matter digestibility, but NDF digestibility was higher ($P < 0.01$) for G1 treated with CTR, AAC and ENZ, G2 treated with CTR, and G4 treated with ENZ than the rest of the treatments. As a conclusion, the study show four groups that, depending on the focus, we can use energy silages (G1), protein silages (G2), easy degradability silage (G3), and silage Balanced (G4) in livestock production feeding.

I. INTRODUCCIÓN

El maíz es la principal fuente de alimento para el ganado en el centro de México, lo que ha llevado a la implementación de programas para la elección de las variedades de maíz con una mayor producción de forraje (SAGARPA, 2010). El aumento de la demanda para la alimentación y la escasa disponibilidad de tierras para el cultivo han hecho necesaria la búsqueda de nuevas variedades de maíz híbrido (Johnson *et al.*, 2003; Iván *et al.*, 2005), lo que implica la necesidad de nuevas alternativas como la heterosis para un mayor valor nutricional, tanto del forraje como del grano.

Existen diferentes métodos para conservar los forrajes los más usados son el henificado y el ensilaje; el método de conservación de ensilado se basa en convertir los carbohidratos solubles a ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico, en condiciones anaerobias a través de las bacterias ácido lácticas (McDonald *et al.*, 1991). Para mejorar el proceso de ensilado, se han empleado aditivos químicos y biológicos (Adesogan y Salawu, 2004), que cuando se combina con inoculantes bacterianos y enzimas, son unos de los más comúnmente utilizados por la rápida producción de ácido láctico, y, en consecuencia, la disminución de pH (Filya *et al.*, 2006).

La técnica de producción de gas *in vitro* (Menke y Steingass, 1988), o las modificaciones realizadas por Theodorou *et al.*, (1994), nos permiten conocer la fermentación y la degradación de los alimentos de acuerdo a la calidad nutricional y la disponibilidad de nutrientes para las bacterias. Los objetivos de este estudio fueron determinar el rendimiento, la composición química y la producción de gas *in vitro* de la planta entera de maíz, en fresco, heno y conservada como ensilado con enzimas o aditivos químicos.

II. REVISION DE LITERATURA

CAPITULO I

1. PRODUCCIÓN DE MAÍZ EN MÉXICO Y EL MUNDO

El maíz es el cereal más cultivado en el mundo y un 98% se emplea para la alimentación humana y animal mientras que el 2% restante tiene aplicación industrial (Naqvi *et al.*, 2011). Dentro de los granos básicos, en los últimos años el maíz presentó el mayor incremento en el volumen de producción, con una tasa media anual de crecimiento (TMAC) de 2.7%, pasó de 615.8 millones en 1998 a 822.7 millones en el 2008. El 80% de la producción de maíz se concentró en 10 países; Estados Unidos ocupó el 1er lugar con 40%, China el 2° con el 20%, Brasil en el 3° con el 6% y México en 4° con el 3% de la producción. Los otros seis países fueron Argentina, Francia, India, Indonesia, Italia y Sudáfrica, que en conjunto agruparon el 11% del volumen producido de maíz (USDA, 2009; FAO, 2010; SIAP SAGARPA, 2010).

Los cambios en volúmenes de producción más acelerados correspondieron a Brasil y la India, cuyas TMAC de 6.5% y 5% implicaron que en 10 años su producción se incrementara en más del 70%; en el caso opuesto Francia e Italia tuvieron una TMAC cercana a cero. Estados Unidos y México tuvieron un comportamiento similar al del promedio mundial, con TMAC de 1.9% y 2.5% respectivamente, que en cada caso representaron incrementos de alrededor del 30% en el volumen de producción entre 1998 y 2008 (USDA, 2009; FAO, 2010; SIAP SAGARPA, 2010).

La superficie cosechada de maíz a nivel mundial tuvo una TMAC de 1.4%, lo que significó un incremento de 138.8 millones de hectáreas en 1998 a 161.0 millones de hectáreas en 2008. El 71% de la superficie cosechada lo concentraron 12 países, como en el caso del volumen de producción, Estados Unidos, China y Brasil se mantuvieron en los tres primeros lugares con 21%, 18% y 9% de la superficie cosechada respectivamente y TMAC de 0.7%, 1.5% y 2.9% respectivamente. Por su parte, México ocupó el 4° lugar en superficie cosechada de maíz con el 5% del total mundial, pero con una tendencia ligeramente a la baja reflejada en una TMAC de -0.6%. En cuanto a rendimientos de los principales productores de maíz se refiere, destacó Estados Unidos con un promedio de 9 ton/ha, sin embargo, hubo países como Kuwait y Jordania que no se ubicaron en los últimos lugares de producción pero

lograron los mejores rendimientos en el periodo, superando las 18 ton/ha, destacando además que en 1998 Jordania obtenía 8.9 ton/ha y en 2008 logró llegar a las 18.4 ton/ha. También cabe mencionar que a pesar de que México se encontró entre los principales países productores y sus rendimientos se incrementaron de manera constante, su promedio en el periodo (2.8 ton/ha) estuvo muy por debajo del promedio mundial (4.6 ton/ha), ocupando el lugar 69 a nivel internacional (USDA, 2009; FAO, 2010; SIAP SAGARPA, 2010).

En México el grano que más se produce es el maíz, esto debido a que constituye la principal fuente de energía para la dieta alimenticia de los mexicanos y por otro lado se utiliza como forraje para el consumo animal; se siembran 535,620 hectáreas de maíz para forraje con una producción de 11,778,483 toneladas de forraje y 7,860,705 hectáreas para producción de grano con una producción de 23,301,878 toneladas de grano y una participación del 90.8 % de maíz blanco, un 8.6% de amarillo y un pequeño porcentaje de otros colores (SIAP, SAGARPA, 2010). De acuerdo con datos del Sistema Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON) la producción de maíz ha presentado una tendencia a la alza durante los últimos once años, esto en virtud de que en 1998 se produjeron 18, 454,710 toneladas y para el 2008 el volumen de producción fue de 24, 410,279 toneladas, lo que significa una TMAC de 2.6%. Entre 1998 y 2008, aproximadamente el 70% del volumen de producción en México se obtuvo de ocho estados, entre los que destacan por el porcentaje de contribución, Sinaloa (16.9%), Jalisco (14.2%), Estado de México (9%) y Chiapas con el 8.4%, durante el mismo período el que presentó mayor dinamismo fue Sinaloa ya que tuvo una TMAC de 6.7%, en contraparte el que tuvo una tendencia a la baja fue Chiapas ya que registró una TMAC para el mencionado período de -0.7%. Para el período de análisis casi el 70% de la superficie sembrada a nivel nacional se concentró en diez estados, entre los que destacan en primer lugar Chiapas con el 10.8%, del segundo al sexto lugar Jalisco (8%), Veracruz (7.5%), Oaxaca (7.2%), Puebla (7.1%) y el Estado de México (7%) y del séptimo al décimo lugar Guerrero (6%), Michoacán (5.9%), Sinaloa (5.5%) y Guanajuato con el 5%. Como se mencionó anteriormente a nivel nacional el volumen de producción en el cultivo de maíz presentó una TMAC de 2.6%, sin embargo con respecto a la superficie sembrada la tendencia fue ligeramente a la baja ya que en 1998 se sembraban 8,520,639 hectáreas y en el 2008 eran 7,942,285 hectáreas, lo que implica una TMAC de -0.6%. De los estados que son

considerados como los principales productores de maíz en México, únicamente el Estado de Sinaloa presentó una TMAC positiva al pasar de 443,267 hectáreas en 1998 a 606,917 hectáreas en el 2008, en contraparte Chiapas es el Estado que tuvo la mayor disminución en términos porcentuales ya que paso de 998,367 hectáreas a 699,921 en el mencionado período, lo cual significa una TMAC de -3.09%, una variable que presentó una importante tendencia a la alza es el rendimiento promedio en el cultivo de maíz ya que a nivel nacional en 1998 se obtenían 2.34 ton/ha y para el 2008 fueron 3.32 ton/ha lo que se traduce en una TMAC de 3.23% (USDA, 2009; FAO, 2010; SIAP SAGARPA, 2010).

Es importante resaltar que de los ocho estados que en conjunto aportaron cerca del 72% del volumen de producción los que están ubicados geográficamente en el centro y norte del país obtuvieron rendimientos superiores al promedio nacional, tales son los casos de: Sinaloa (7.76 ton/ha), Jalisco (4.68 ton/ha), Guanajuato (3.48 ton/ha), Estado de México (3.28 ton/ha) y Michoacán (2.96 ton/ha), por otro lado los que están en el Sur y Sureste del País obtuvieron un rendimiento promedio inferior a la media nacional, dichos estados son: Guerrero (2.48 ton/ha), Chiapas (2 ton/ha) y Veracruz (1.93ton/ha). Todos los estados anteriormente mencionados tuvieron una TMAC positiva en relación con el rendimiento promedio por hectárea. Dos estados que tienen rendimientos importantes son Baja California Sur con 5.61 toneladas por hectárea y Sonora con 5.25, sin embargo el volumen de producción que aportan es inferior al 1% en ambos casos (USDA, 2009; FAO, 2010; SIAP SAGARPA, 2010).

En el estado de México específicamente se siembran 600,000 hectáreas con maíz, donde la zona más importante para este cultivo es el valle de Toluca- Atlacomulco, ya que se siembra cerca del 50% (300,000 ha) de la superficie estatal destinada a este cultivo y se obtiene alrededor del 60% de la producción estatal (Arellano, 2010). En México existen centros de investigación como son el Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y del Trigo (CIMMYT), el Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México (ICAMEX) y el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), los cuales han desarrollado diferentes variedades de maíces híbridos, que deben ser evaluados.

CAPITULO II

2. MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DEL FORRAJE

Para la producción animal es importante conocer la composición química y el valor nutritivo de los alimentos que son proporcionados (Escamilla *et al.*, 2000) al igual que los métodos de conservación del alimento para las épocas de estiaje, teniendo en cuenta los factores que afectan cada método de conservación.

2.1. ENSILADO

El ensilaje de maíz es uno de los forrajes conservados más importantes y versátiles en el mundo. Es una mezcla única de grano y fibra digestible, que constituye una de las principales fuentes energéticas para la alimentación de los rumiantes (Ruiz *et al.*, 2009). El ensilado consiste en la conservación de forrajes frescos u otros alimentos con elevado contenido de humedad, en unos reservorios especiales denominados silos, al abrigo del aire, la luz y la humedad exterior. El fin esencial del ensilado es conservar los forrajes con un mínimo de pérdidas de materia seca (MS) y de nutrientes (Adesogan, 2006), manteniendo una buena ingestibilidad por el ganado y sin que se produzca durante el proceso sustancias que puedan ser tóxicas para la salud del animal. Permite conservar el forraje en un estado físico parecido al que tenía en el momento de la recolección y su composición química esta modificada por la fermentación que sufre. La finalidad de este proceso consiste en desencadenar en la biomasa tratada, una fermentación ácido-láctica que reduzca el pH (<4.0) y estabilice el producto. Otro tipo de fermentaciones, acéticas o butíricas, degradan la proteína y producen amoníaco y otros fermentos que deterioran el producto ensilado en forma peligrosa (Duthil, 1980) pudiendo ser tóxicos para el consumo de los animales por la presencia de bacterias (*Clostridium spp*; *Listeria spp*) (Spross *et al.*, 2000).

Una vez que el material fresco ha sido almacenado, compactado y cubierto para excluir el aire, el proceso de ensilaje puede dividirse en cuatro fases (Weinberg y Muck, 1996; Driehuis y Oude Elferink., 2000).

Fase 1 - Fase aeróbica. En esta fase el oxígeno atmosférico presente en el forraje disminuye rápidamente debido a la respiración de los materiales vegetales y a los microorganismos aeróbicos y aeróbicos facultativos como las levaduras y las

enterobacterias. Además hay una actividad importante de varias enzimas vegetales, como las proteasas y las carbohidrasas, siempre que el pH se mantenga en el rango normal para el jugo del forraje fresco (pH 6,5-6,0).

Fase 2 - Fase de fermentación. Esta fase comienza al producirse un ambiente anaeróbico, dura de varios días hasta varias semanas, dependiendo de las características del material ensilado y de las condiciones en el momento del ensilaje. Si la fermentación se desarrolla con éxito, la actividad BAC proliferará y se convertirá en la población predominante. A causa de la producción de ácido láctico y otros ácidos, el pH bajará a valores entre 3,8 a 5,0.

Fase 3 - Fase estable. Mientras se mantenga el ambiente sin aire, ocurren pocos cambios. La mayoría de los microorganismos de la Fase 2 lentamente reducen su presencia. Algunos microorganismos acidófilos sobreviven este período en estado inactivo; otros, como clostridios y bacilos, sobreviven como esporas. Sólo algunas proteasas y carbohidrasas, y microorganismos especializados, como *Lactobacillus buchneri* que toleran ambientes ácidos, continúan activos pero a menor ritmo.

Fase 4 - Fase de deterioro aeróbico. Esta fase comienza con la apertura del silo y la exposición del ensilaje al aire. Esto es inevitable cuando se requiere extraer y distribuir el ensilaje. El período de deterioro puede dividirse en dos etapas. La primera se debe al inicio de la degradación de los ácidos orgánicos que conservan el ensilaje, por acción de levaduras y ocasionalmente por bacterias que producen ácido acético. Esto induce un aumento en el valor del pH, lo que permite el inicio de la segunda etapa de deterioro; en ella se constata un aumento de la temperatura y la actividad de microorganismos que deterioran el ensilaje, como algunos bacilos. La última etapa también incluye la actividad de otros microorganismos aeróbicos -también facultativos- como mohos y enterobacterias. El deterioro aeróbico ocurre en casi todos los ensilajes al ser abiertos y expuestos al aire. Sin embargo, la tasa de deterioro depende de la concentración y de la actividad de los organismos que causan este deterioro en el ensilaje. Las pérdidas por deterioro que oscilan entre 1,5 y 4,5 por ciento de materia seca diarias pueden ser observadas en áreas afectadas. Estas pérdidas son similares a las que pueden ocurrir en silos herméticamente cerrados y durante períodos de almacenaje de varios meses (Honig y Woolford, 1980).

2.1.1. USO DE ADITIVOS EN LOS ENSILADOS

A partir de la década de 1990, el uso de aditivos para mejorar las condiciones del proceso de ensilaje comenzó hacerse muy común. Existe un amplio rango donde escoger sustancias como aditivos y actualmente se dispone de un gran número de aditivos químicos y biológicos comerciales adecuados para el ensilaje. El modo de actuar de la mayoría de está comprendido en pocas categorías.

Entre aditivos de la misma categoría se manifiestan diferencias tales como la efectividad general, la adecuación para determinado tipo de forraje, y la facilidad para su manejo y aplicación. Estos factores, junto al precio y la disponibilidad, determinan cual es el aditivo más conveniente para un ensilaje específico. Un problema práctico que presentan algunos aditivos es su naturaleza corrosiva que puede dañar equipos y constituir un riesgo para su manipulación. Los aditivos biológicos no son corrosivos, son seguros por lo que no hay peligro en su manipulación, además son fáciles de usar y no contaminan el medio ambiente (Adesogan and Salawu, 2004; Adesogan *et al.*, 2007), pero suelen ser caros. Además su eficacia es menor puesto que depende del estado de actividad de organismos vivos. Los inoculantes bacterianos son uno de los aditivos más comúnmente usados en el proceso del ensilado. Estos productos, comprenden bacterias ácido lácticas (BAL) homofermentativas como son *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* y diversas especies de *Pediococcus* los cuales son a menudo usados para controlar la fermentación del ensilado con una rápida producción de ácido láctico y en consecuencia una disminución en el pH, sin embargo, tales inoculantes mejoran la deteriorización del ensilado de maíz (Sanderson 1993; Weinberg *et al.*, 1993; Filya 2002a,b; Muck 2004) porque en estas fermentaciones no son producidos suficientes ácidos grasos volátiles (AGVs) para la protección del ensilaje contra microorganismos de la descomposición anaerobia.

En años recientes, una bacteria ácido láctica heterofermentativa, *Lactobacillus buchneri*, ha sido estudiada como un aditivo para mejorar la estabilidad aeróbica del ensilado (Muck 1996). *Lactobacillus buchneri* produce altas concentraciones de ácido acético en el ensilado, lo que mejora la estabilidad aeróbica del mismo.

2.1.2. TIPOS DE ADITIVOS USADOS EN EL ENSILAJE

2.1.2.1. ADITIVOS PARA MEJORAR LA FERMENTACIÓN DEL ENSILAJE

La aplicación de técnicas apropiadas durante la cosecha y el ensilado no son suficientes para impedir que la fermentación inicial del ensilaje (Fase 2) se realice en forma inadecuada. Esto puede ocurrir por una presencia escasa de microorganismos BAC (bacterias epifíticas de ácido láctico) apropiados o por una baja concentración de carbohidratos hidrosolubles (CHS), o ambos.

Los forrajes que contienen cantidades insuficientes de sustrato para fermentar o un bajo contenido de materia seca arrojan un coeficiente de fermentación menor a 35 ($CF < 35$). En tales condiciones, para inducir una buena fermentación es preciso aumentar el contenido de azúcares, ya sea agregándolos directamente (p. ej. usando melaza) o introduciendo enzimas que puedan liberar otro tipo de azúcares presentes en el forraje. Los forrajes con valores de CF de 35 o más, tienen suficiente sustrato disponible para una buena fermentación. Sin embargo, agregando ciertos BAC se puede acelerar y mejorar el proceso del ensilaje. En casos de ensilajes con alto contenido de materia seca y poca disponibilidad de agua, la presencia de un BAC que sea tolerante a la presión osmótica pasa a ser el factor crítico para una buena fermentación ya que este tipo de bacteria representa una porción muy pequeña de la microflora natural de los cultivos forrajeros (Pahlow y Weissbach, 1996). Los forrajes que contengan más de 50 por ciento de materia seca se consideran muy difíciles de ensilar (Staudacher *et al.*, 1999).

Los ensilados de gramíneas y cereales inmaduros cuando se cosecha la planta entera, son más propensos a fermentaciones de clostridios que otros cultivos que tienen un contenido moderado de nitratos (Spoelstra, 1983: 1985). Puede ser útil usar inoculantes que incrementen la fermentación láctica para inhibir la actividad de clostridios. La menor concentración de BAC que se precisa para inhibir la actividad de clostridios es, como mínimo, 100,000 unidades formadoras de colonias por gramo de forraje fresco (Kaiser y Weiss, 1997).

2.1.2.2 ADITIVOS PARA INHIBIR LA FERMENTACIÓN DEL ENSILAJE

Este tipo de aditivos podrían, en teoría, usarse para todo tipo de forraje. Pero, en la práctica se usan generalmente sólo para cultivos con bajo contenido de carbohidratos hidrosolubles (CHS) y/o alta capacidad tampón (McDonald *et al.*, 1991). Los aditivos que inhiben la fermentación en el ensilaje pueden reducir la cantidad de esporas de clostridios. Empleados en ensilaje de forraje marchito de gramíneas, se ha constatado una disminución de esporas de cinco a 20 veces. Resultados similares pueden lograrse también al agregar melaza, como un estimulante de la fermentación. Los aditivos más efectivos para inhibir el desarrollo de clostridios parecen ser aquellos relacionados con el ácido fórmico, el hexametileno y los nitritos (Jonsson *et al.*, 1990).

2.1.2.3. ADITIVOS QUE INHIBEN EL PROCESO DE DETERIORO AERÓBICO

Para impedir el deterioro aeróbico será preciso inhibir la actividad y desarrollo de los organismos responsables de este deterioro, y muy especialmente de aquellos que dan comienzo a este proceso (p. ej. levaduras y bacterias que generan una fermentación acética). Algunos aditivos útiles para este propósito incluyen varios ácidos grasos volátiles, como el propiónico y el acético, y otros de tipo biológico, provenientes de microorganismos como lactobacilos y bacilos que son capaces de producir bacteriocinas (Woolford, 1975a; McDonald *et al.*, 1991; Phillip y Fellner, 1992; Weinberg y Muck, 1996).

Los ácidos sórbico y benzoico también muestran una fuerte actividad antibiótica (Woolford, 1975b; McDonald *et al.*, 1991). Recientemente se ha descubierto que *Lactobacillus buchneri* es un inhibidor muy eficaz del proceso de deterioro aeróbico. Esto parece explicarse principalmente por la capacidad de *L. buchneri* para degradar, bajo condiciones anaeróbicas, el ácido láctico en ácido acético y 1,2-propanodiol, lo cual causa a su vez una disminución muy significativa del número de levaduras presentes (Driehuis *et al.*, 1997, 1999; Oude Elferink *et al.*, 1999). Este resultado concuerda con el hecho que los ácidos grasos volátiles, como propiónico y acético, son mejores inhibidores de levaduras que el ácido láctico, y que mezclas de ácidos láctico y propiónico o acético muestran efectos sinérgicos en su poder inhibidor (Moon, 1983). Los resultados de Moon (1983) también explican porque en muchos casos, los inoculantes biológicos que promueven la fermentación láctica

homofermentativa no mejoran la estabilidad aeróbica, y pueden incluso disminuirla (Weinberg y Muck, 1996; Oude Elferink *et al.*, 1997).

La inoculación de bacterias que producen propionatos no parece ser apropiada para mejorar la estabilidad aeróbica del ensilaje. Esto se debe al hecho que este tipo de bacterias sólo puede proliferar y producir propionato siempre que el nivel del pH en el ensilaje permanezca relativamente alto (Weinberg y Muck, 1996).

2.1.2.4. ADITIVOS USADOS COMO NUTRIENTES O COMO ABSORBENTES

Ciertos cultivos muestran deficiencias en algunos componentes nutritivos esenciales para una buena dieta para rumiantes, al suplir los elementos deficitarios con un aditivo en el momento de ensilar se mejora el valor nutritivo del forraje. Los aditivos empleados con este propósito incluyen el amoníaco y la urea que permiten aumentar el contenido en proteína, bruta y verdadera, del ensilaje, y la cal y el $MgSO_4$ que aumentan el contenido de calcio y magnesio. Si bien estos últimos aditivos no tienen efecto benéfico alguno en la fermentación, los aditivos que contienen nitrógeno no proteico como la urea y el amoníaco pueden mejorar la estabilidad aeróbica del ensilaje (Glewen y Young, 1982; McDonald *et al.*, 1991), los cuales agregados a forrajes con alto contenido de MS y bajo poder tampón (granos de maíz o sorgo) aumentan el contenido de proteína bruta y pueden mejorar la estabilidad aeróbica del ensilado (Argamentaría *et al.*, 1997), la adición de urea en ensilados de caña de azúcar aumenta el contenido de nitrógeno amoniacal, siendo una ventaja para este tipo de ensilado ya que la producción de amonio controla la aparición de levaduras, asimismo, al momento de la apertura del silo los tratamientos con urea más aditivo microbiano o sin él presentaron un pH inferior que los tratamientos que contenían hidróxido de sodio (NaOH) (Rezende *et al.*, 2007).

Los absorbentes son empleados para forrajes con bajo contenido en materia seca para evitar pérdidas de nutrientes provocadas por un escurrimiento excesivo del ensilaje. El uso de paja es útil pero tiene el efecto negativo de bajar el valor nutritivo del ensilaje (McDonald *et al.*, 1991).

2.1.2.5. COMBINACIONES DE ADITIVOS

La mayoría de los aditivos comerciales contienen más de un ingrediente activo con lo cual se logra incrementar la eficacia y abarcar un rango más amplio de funciones. Algunas combinaciones utilizadas incluyen inoculantes que estimulan la fermentación láctica homofermentativa junto con enzimas que permiten liberar ciertos azúcares, o combinaciones que permiten la fermentación y deterioro de sustancias inhibitoras como el ácido fórmico, sulfitos y ácido propiónico (Rider, 1997). Actualmente se trabaja en la obtención de nuevos aditivos que disminuyen el efecto negativo de la fermentación láctica homofermentativa sobre la estabilidad aeróbica. Ya se han obtenido resultados promisorios que combinan productos homofermentativos y heterofermentativos facultativos del grupo BAC con reactivos como el amoníaco y el benzoato de sodio, o combinando BAC heterofermentativos facultativos con *L. buchneri* heterofermentativo obligatorio.

2.2. HENIFICADO

La henificación fue el primer proceso ideado por el hombre para conservar parte de los forrajes verdes, principalmente gramíneas y leguminosas, sobrantes de la época de abundancia de los pastos con el fin de utilizarlos en los meses de escases (Enrique y Reinaldo, 2006).

La hierba fresca contiene alrededor del 70 al 85% de humedad, y cuando esta se corta y se seca mediante el desecado natural al sol o métodos artificiales, se reduce a un 15-20%, pudiendo almacenarse en forma de heno sin riesgo de que se deteriore, siempre que naturalmente, se proteja de la lluvia, un heno con un 80-85% de materia seca se puede conservar sin peligro de que se fermente, la sencillez del proceso y su larga tradición convierten la henificación en uno de los principales métodos de conservación de los forrajes (Enrique y Reinaldo, 2006).

El fundamento del método se basa en que la humedad de un alimento constituye uno de los factores más importantes que influyen favorablemente en el crecimiento microbiano (bacterias y mohos) y pueden formar parte de la microflora, manteniéndose sobre las diferentes partes de las plantas, desarrollando ciertas

relaciones con estas (Enrique y Reinaldo, 2006). Estos microorganismos son los responsables de las fermentaciones y enmohecimiento de los forrajes, y por lo tanto su deterioro. Al reducirse el contenido de agua de los forrajes verdes mediante la henuficación u otros métodos disminuyen las condiciones favorables para el desarrollo microbiano, lo que permite que puedan almacenarse en grandes cantidades sin que se presente una fermentación pronunciada o se enmohezcan (Enrique y Reinaldo, 2006).

El éxito de este proceso de desecación se basa en la disminución rápida del contenido de agua, antes de que la respiración y la fermentación de la célula vegetal consuman las reservas nutritivas del forraje (Melgarejo *et al*, 2000). Las pérdidas en nutrientes son proporcionales a la duración del proceso y los resultados obtenidos dependen en gran parte de las condiciones climáticas que influyen en la cantidad y calidad de los forrajes y en las precipitaciones atmosféricas. En regiones secas y desérticas es posible lograr el heno fácilmente, pero en regiones húmedas y muy lluviosas la operación resulta a veces muy difícil (Enrique y Reinaldo, 2006).

2.2.1 PROCESO DE HENIFICACIÓN

Está compuesto por cuatro fases: corte, secado, empaado y almacenamiento (Crurch *et al.*, 2002)

CORTE.

El corte debe efectuarse en el momento en que se consigue el balance del mejor rendimiento del forraje y sus nutrientes (energía y proteína).

SECADO.

Esta fase inicia una vez cortado el forraje, se deja expuesto al sol, se recomienda realizarlo cuando las precipitaciones hayan disminuido. Si el heno no logra alcanzar el 20% de humedad en el momento de ser embalado puede sobrecalentarse.

EMPACADO.

Consiste en recoger el forraje cortado y casi seco, para reducirlo a pacas compactas. Esto se logra amarrando el forraje, ya sea de forma manual o mecánica, se pueden obtener pacas de 15 a 20 kg o rollos con un peso entre 500 y 1000 kg.

ALMACENAMIENTO.

Cuando se disponga de las pacas o los rollos se deben apilar en lugares protegidos y bien aireados.

2.2.2. TIPOS DE HENIFICACIÓN

Existen tres tipos de henificación: natural, semiartificial y artificial

HENIFICACIÓN NATURAL

El forraje cortado y extendido se deseca en el campo mediante la exposición al sol. Este proceso resulta económico, pero depende de las condiciones ambientales. Se deben seguir las siguientes recomendaciones:

La henificación debe realizarse de manera que el forraje no se decolore, que no pierda sus elementos nutritivos, para obtener este es necesario que las plantas se corten en un estado de madurez conveniente, que conserven la mayoría de sus hojas tallos blandos y plegadizos, color verde, que tengan la menor cantidad de materias extrañas, que estén libres de mohos y que tengan la fragancia típica del cultivo de que están hechos.

Elegir para la realización de los henificados un periodo de varios días de buen tiempo, porque la exposición a la lluvia o rocíos fuertes, pueden ocasionar pérdidas por lixiviación que reducen el valor nutritivo del heno.

Preferentemente segar por las mañanas después de que haya desaparecido el rocío, pues el agua se seca con mayor dificultad sobre la hierba y se deposita en el terreno, además las pérdidas de caroteno provitamina o precursor de la vitamina A son menores.

El área a cortar se debe adaptar a las operaciones restantes (henificación, volteo, empacado, transporte, etc.) principalmente cuando el proceso sea totalmente mecanizado.

La altura de corte debe ser entre 15 a 20 cm, según la especie.

La exposición al sol debe ser entre 18 a 20 horas luz, es decir nunca debe exponerse el forraje al sol por más de tres días después de segado el forraje.

Cuando la parte superior del forraje aparece seca es conveniente esparcirla y voltearla, y por la tarde es preferible juntar el forraje, con el objeto de impedir que absorba humedad durante la noche, el forraje debe voltearse cada 3 a 4 horas para que se seque uniformemente hasta que alcance un 20% o menos de humedad.

HENIFICACIÓN SEMIARTIFICIAL

La duración de la henificación del forraje sobre el terreno puede reducirse mediante el procedimiento de secado complementario en el henil, es decir el heno se deseca en el campo hasta determinado contenido de humedad y posteriormente en el henil en el que se hace circular una corriente de aire a temperatura normal o caliente (Enrique y Reinaldo, 2006). A través de la masa del forraje el cual todavía contiene del 40 al 50% de humedad, el aire inyectado que pasa a través del forraje arrastra la humedad, produciendo una desecación progresiva. El empleo de aire caliente o frío dependerá de las características de las plantas.

HENIFICACIÓN ARTIFICIAL

La industria de la deshidratación se logro establecer poco antes de 1930, pero su desarrollo tuvo lugar de 1943 a 1948. La deshidratación industrial moderna es un fenómeno técnico y económico cuya aparición en la vida contemporánea es relativamente reciente, sin embargo a causa del proceso rápido de grandes producciones de forrajes deshidratados, la misma se inserta progresivamente en la economía moderna.

Una planta de deshidratación consta de un horno alimentado con hulla, carbón o electricidad y una cámara de deshidratación en la que se somete la hierba a la acción del aire caliente (Enrique y Reinaldo, 2006).

La deshidratación artificial de la hierba por su secado rápido es el método de conservación de los forrajes que provoca menores pérdidas, reduciéndose considerablemente estas por respiración ulterior de las células vegetales, la cual no ocurre hasta que la hierba ha alcanzado el 65% de materia seca aproximadamente

(Enrique y Reinaldo, 2006). Las pérdidas comprendidas en la recolección del forraje verde alcanzan generalmente del 5 al 10% de la materia seca presente en el campo. Si la deshidratación se realiza adecuadamente, no solo se conserva la valiosa proteína, sino también el caroteno.

El principio fundamental es evitar el recalentamiento gradual del forraje, provocando en cambio, una rápida evaporación del agua de los tejidos vegetales, de tal forma que la temperatura interna de las hojas y los tallos no supere los 80° C aproximadamente, a partir de los cuales se verifican fenómenos de desnaturalización de las sustancias proteicas y de otros componentes nutritivos (Enrique y Reinaldo, 2006) esto se lleva a cabo con más de 65-70°C.

2.2.3. CARACTERÍSTICAS DEL HENIFICADO

Olor agradable

Libre de hongos

Color verde

VENTAJAS DE LA HENIFICACIÓN

Constituye un forraje de buena calidad que puede utilizarse en épocas de escases

Fácil de manejar y suministrar a los animales

Fácil de comercializar y transportar

Pueden utilizarse los residuos de cosecha una vez que se eliminó la parte útil (vainas)

DESVENTAJAS DE LA HENIFICACIÓN

Su preparación depende de las condiciones climáticas

Si se realiza mediante métodos mecánicos y/o artificiales, se requiere de una inversión importante en equipo y maquinaria.

CAPITULO III

3. COMPOSICION QUIMICA DE LOS FORRAJES

3.1 CALIDAD DE LOS FORRAJES

La calidad del forraje es definida como una expresión de las características que afectan el consumo, el valor nutricional y los resultados en el desarrollo del animal (Amigot *et al.*, 2005); en otras palabras, la calidad del forraje se refiere a como los animales consumen un alimento y que tan eficientemente los nutrientes de este forraje son convertidos en productos por el animal (Taysom, 2002), por lo tanto la mejor medición para la evaluación de la calidad de los forrajes es la productividad animal, la cual puede ser afectada por el consumo de nutrientes, la digestibilidad y la eficiencia de utilización (Fulgueira *et al.*, 2007).

3.1.1. FACTORES QUE INFLUYE EN LA CALIDAD DE LOS FORRAJES.

3.1.1.1. Especie cultivada existe diferencias muy marcadas en la calidad del forraje entre pastos, gramíneas y leguminosas relacionadas principalmente en la cantidad de fibra, el contenido de proteína y la digestibilidad de estas, lo cual tiene un impacto en el consumo y la productividad (Cherney, 2000).

3.1.1.2. Fertilización. La fertilidad del suelo tiene una gran influencia en la producción y calidad de los forrajes, niveles apropiados de fosforo y potasio en el suelo contribuyen a un mayor desarrollo de los forrajes, es necesario un balance adecuado entre la fertilidad del suelo y la disponibilidad de los nutrientes para los forrajes (Fulgueira *et al.*, 2007).

3.1.1.3. Variedad del cultivo. Después de décadas del desarrollo de nuevas variedades, se han identificado variedades con mayor producción y características nutritivas superiores (Fulgueira *et al.*, 2007).

3.1.1.4. Madurez. El estado de madurez al que es cosechada la planta es el factor más importante que afecta la calidad del forraje; la calidad del forraje no es estática, continuamente cambia de acuerdo al desarrollo, y estos cambios pueden ser tan rápidos que es posible detectar cambios en la concentración de nutrientes en un periodo de dos o tres días (Fulgueira *et al.*, 2007).

3.1.1.5. Cosecha y almacenaje. Técnicas inapropiadas de cosecha pueden reducir considerablemente la calidad del forraje, tal es el caso de la pérdida de las hojas en el

caso de henificado, de igual forma un mal almacenaje del forraje puede alterar la calidad como el caso de la contaminación de los ensilajes por hongos lo cual reduce el contenido de proteína y la digestibilidad (Fulgueira *et al.*, 2007).

3.1.1.6. Medio ambiente. Las condiciones climáticas afectan la calidad y la producción de los forrajes, altas temperaturas pueden incrementar la cantidad de lignina disminuyendo la calidad del forraje; durante la época de cosecha la presencia de lluvias disminuye la cantidad de materia seca (Cherney, 2000).

3.2. COMPOSICION QUIMICA DE LOS FORRAJES

El alimento como tal se divide en materia seca y materia húmeda (agua). La materia seca a su vez se divide en materia orgánica (carbohidratos “pared celular y contenido celular”, lípidos y proteínas) y materia inorgánica o minerales (cenizas) (Figura 1).

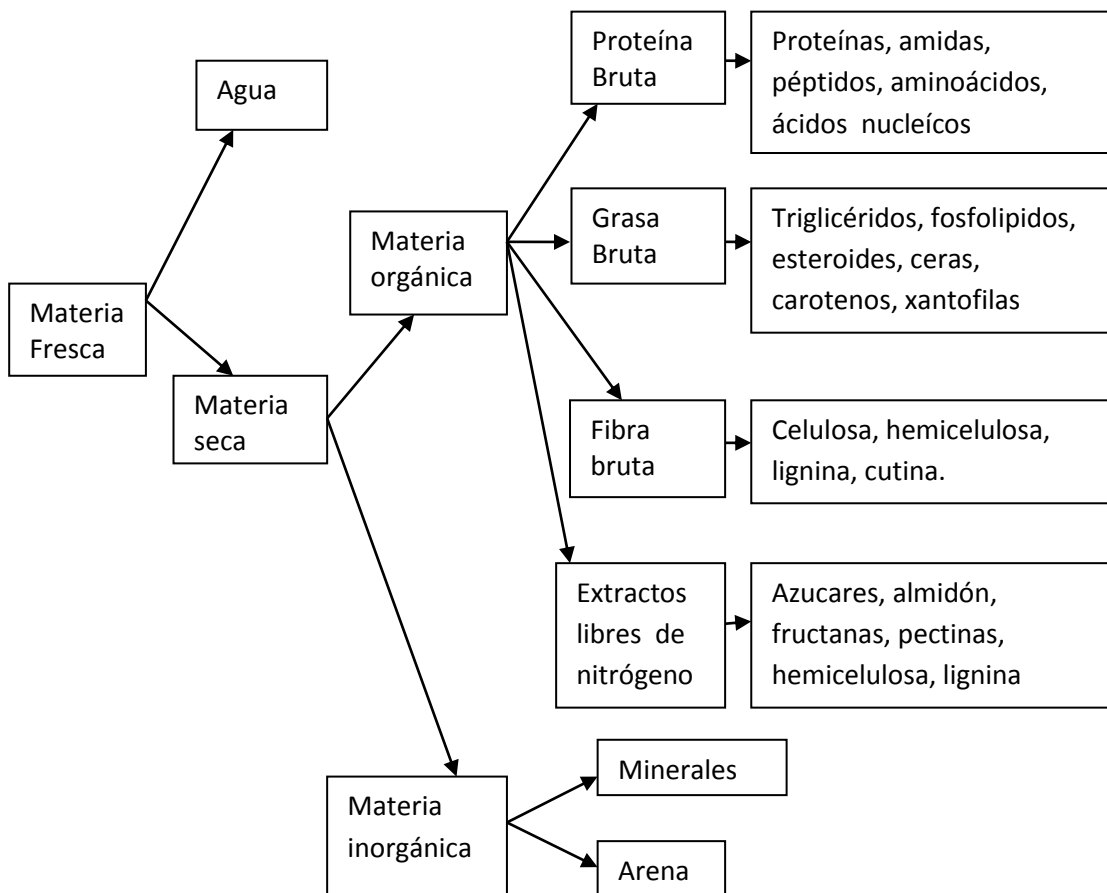


Figura 1. Composición química de los alimentos (Mc Donald *et al.*, 2002)

3.2.1. Humedad.

Es la cantidad de agua contenida en la muestra de alimento. Se calcula como la pérdida de peso al desecar la muestra en una estufa, a presión atmosférica, con temperatura ligeramente superior a la ebullición del agua, hasta alcanzar un peso constante (Escamilla *et al.*, 2000).

3.2.2. Materia seca.

Es la fracción restante después de extraer el agua de la muestra. En esta se encuentran los nutrimentos y posee una porción orgánica y una inorgánica (Escamilla *et al.*, 2000). Es necesaria una correcta determinación de la materia seca de un alimento, ya que un error en este paso se transfiere al resto de los componentes, los cuales deben ser expresados en base seca para permitir comparaciones con otros alimentos. En el caso de forrajes frescos y heno, se puede determinar el contenido de materia seca por varias opciones: el secado en horno a 65° C por 48 h, a 100° C por 24 h, o a 135° C por 3 h (Cherney, 2000). En el caso de los forrajes ensilados se debe efectuar una corrección por los componentes volátiles producidos durante el ensilaje, en estos casos se efectúa una destilación con tolueno.

3.2.2.1. Materia orgánica

a) Proteína cruda: esta aporta al organismo los aminoácidos que le permiten la síntesis de proteínas para los tejidos (Escamilla *et al.*, 2000). El principio básico para estimar el contenido de proteína de una muestra es a partir del contenido de nitrógeno (N) total, y se asume que la proteína verdadera contiene en promedio 16% de N, sin embargo, esto no siempre es así, por lo que Cherney (2000) sugirió la inclusión de un factor de corrección para el contenido de nitrógeno en la determinación de la proteína cruda, por lo tanto, el análisis de la proteína cruda así planteado es inadecuado para describir la calidad de la proteína (Van Soest, 1994; Cherney, 2000).

b) Grasa cruda o extracto etéreo: su función es aportar al organismo los ácidos grasos esenciales; se le considera como fuente secundaria de energía. Su valor se determina mediante la cantidad de grasa o aceite que se extrae de la muestra al agregarle éter (Escamilla *et al.*, 2000).

c) Fibra: es una fuente de energía para los rumiantes. Los sistemas tradicionales para determinar el contenido de fibra de los alimentos para animales han sido el análisis proximal (método de Weende) y el método de los detergentes de Van Soest (Van

Soest *et al.*, 1991); este último tiene ventajas sobre el primero por que separa los carbohidratos de acuerdo a su disponibilidad nutricional y puede ser empleado para predecir la digestibilidad de un forraje (Van Soest, 1994).

3.2.2.2. Materia inorgánica.

Cenizas: es una fuente inespecífica de minerales, en ocasiones contienen sustancias no combustibles, algunas de la cuales son indigestibles, su valor nutricional depende del tipo de alimento del que provengan, su valor es igual al peso del residuo que se obtiene después de incinerar la muestra (Escamilla *et al.*, 2000).

3.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MAÍZ

El maíz para forraje tiene una alta productividad, bajos contenidos de proteína y minerales y elevado valor energético (Núñez *et al.*, 2003). En México los ensilados de maíz tienen un valor de energía neta para lactación bajo en comparación con los ensilados de maíz de Estados Unidos de América y Europa. Lo anterior se atribuye a que en el pasado se hizo énfasis, principalmente, en el rendimiento en la producción por hectárea y no en el valor nutritivo (Núñez *et al.*, 2003).

Varios autores han indicado diferencias entre híbridos de maíz en los contenidos de proteína, fibra y digestibilidad tanto de la materia seca como de la fibra (Allen *et al.*, 1995). El porcentaje de mazorca es una de las características más importantes que determina el valor energético de la planta entera del maíz. Algunos autores mencionan que la digestibilidad *in vitro*, estuvo relacionada con el índice de cosecha del grano (Castra *et al.*, 1997; Corral *et al.*, 2010), sin embargo, otros investigadores mencionan que el índice de cosecha del grano interacciona con las condiciones ambientales que se presentan cada año cuando crecen las plantas del maíz (Graybill *et al.*, 1991).

Otro estudios señalan la contribución de las características nutritivas de hojas y tallos, en la digestibilidad de híbridos de maíz; se han indicado diferencias entre genotipos de 26.2 a 65.0% en la digestibilidad de tallos y de 58.0 a 67.6 % en la digestibilidad de las hojas (Lundvall *et al.*, 1994). En otro estudio se encontraron variaciones entre genotipos en fibra detergente neutro (FDN) de 57.9 a 65.4% en hojas y tallos, con incremento en la digestibilidad, de la materia seca total, al aumentar la digestibilidad en las hojas y los tallos (Wolf *et al.*, 1993). Lo anterior indica gran variabilidad en

características agronómicas y químicas, relacionadas con la digestibilidad y con el valor energético de híbridos de maíz para forraje (Núñez *et al.*, 2003).

La producción de materia seca se ha relacionado positivamente con los días a la cosecha ($r=0.89$), y la altura de las plantas ($r=0.77$), y negativamente con el porcentaje de mazorca ($r=-0.75$). Por otra parte el valor energético del maíz forrajero puede estar asociado negativamente con las concentraciones de las fracciones fibrosas ($r=-0.92$) y positivamente con el porcentaje de mazorca ($r=0.83$). Además, la producción de materia seca por hectárea se puede asociar negativamente con la digestibilidad *in vitro* ($r=-0.66$) y la energía neta de lactación ($r=-0.70$) (Núñez *et al.*, 2005).

En México, otro factor que puede ocasionar que los rendimientos de materia seca por hectárea y la calidad nutricional sean bajos, es la cosecha del maíz forrajero en un estado temprano de madurez (masoso-lechoso o masoso)(Núñez *et al.*, 2005). Algunos autores emplearon el avance en la línea de leche del grano como criterio para monitorear el desarrollo de la madurez del maíz forrajero (Crookston y Kurle, 1988). Otras investigaciones (Wiersma, *et al.*, 1993) reportan que la mayor producción de materia seca por hectárea se obtuvo cuando el grano de maíz presento un avance de $\frac{1}{2}$ de la línea de leche y la máxima digestibilidad *in vitro* cuando el grano estuvo de estado dentado a un avance de $\frac{3}{4}$ de la línea de leche. Ciertas investigaciones (Xu *et al.*, 1995) indican que con la cosecha de híbridos de maíz a $\frac{1}{3}$ de avance de la línea de leche en el grano se obtuvo la mayor producción de materia seca por hectárea y digestibilidad *in vitro*.

CAPITULO IV

4. METODOS PARA EVALUAR LA DIGESTIBILIDAD DE LOS FORRAJES

La digestibilidad (parte de un alimento que después de ser ingerido y digerido no aparece en las heces debido a su desintegración y absorción) de los forrajes puede ser determinada a través de diferentes métodos como son el método *in vivo*, el cual se encuentra limitado por la necesidad de disponer de un numero representativo de animales homogéneos, de alimento suficiente para mantenerlos y de mucho tiempo; el método *in situ* o *in sacco* (incubando el alimento en el rumen donde las fracciones que desaparecen del alimento, originalmente introducido, son las que han sido digeridas), o el método *in vitro*, el cual se emplea para simular los procesos digestivos a lo largo del tubo colocando la muestra con liquido ruminal y enzimas determinando la cantidad de gas producido, como índice de la fermentación de un alimento (Getachew *et al.*, 1998; Fondevilla y Barrios., 2001).

4.1. Método *in vivo*

La determinación de la digestibilidad de los alimentos *in vivo*, tradicionalmente se hace mediante la medición del alimento consumido y el alimento que es excretado en las heces, analizando el contenido de materia seca del alimento y posteriormente el de las heces, esta última denominada digestibilidad aparente, ya que no contempla o resta las excreciones de las células de descamación y bacterias procedentes del tubo gastrointestinal, al realizar una corrección a esta última obtendríamos lo que se denomina comúnmente “digestibilidad real de los alimentos”.

A partir de los datos de la digestibilidad *in vivo* se puede obtener diferente información del comportamiento productivo de los animales como son: ganancia diaria de peso, consumo voluntario y digestibilidad de los alimentos; y determinaciones más específicas como digestibilidad de la materia orgánica (MOd), digestibilidad de las diferentes fracciones de fibra, o realizando una corrección al considerar la excreción de orina y cuantificar su contenido de nitrógeno, se determina un balance de nitrógeno, en este caso la cantidad de nitrógeno ingerido y el excretado nos indican si el animal está reteniendo nitrógeno (balance positivo) o está perdiendo nitrógeno (balance negativo), en este caso es posible que el animal no esté cubriendo sus requerimientos mínimos de nitrógeno para mantenimiento.

Esta técnica es laboriosa, requiere de mucho tiempo para la adaptación de los animales a una ración determinada, así como grandes cantidades de alimento es inconveniente por su larga escala para evaluar el alimento (Coelho *et al.*, 1988; Carro *et al.*, 1994); sin embargo, es la que realmente determina cómo se comporta el alimento en una determinada especie animal, bajo las condiciones medioambientales y el estado fisiológico del animal.

4.2. Método *in situ* o *in sacco*

La técnica de bolsas de nylon (*in sacco*) ha sido usada por muchos años, provee información sobre el porcentaje y puntos de constituyentes de alimentos desaparecidos (Meherz y Orskov, 1997). Esta técnica provee útiles medios para estimar porcentajes de desaparición y degradabilidad de los constituyentes de los alimentos. La desventaja de este método es que solo un pequeño número de muestras de alimentos pueden ser valoradas en un tiempo, y también requiere de un mínimo de tres animales fistulados y provistos de una cánula ruminal para considerar las variaciones debido a los animales. Esta técnica es laboriosa debido a la gran cantidad de muestras que se necesitan, los errores en los valores obtenidos son debidos principalmente a que es una determinación gravimétrica (la variación de la digestión por una pérdida de peso), que distorsiona los resultados, así como debido a la adherencia de microorganismos (para el caso de PDR), Dewhursts *et al.*, (1995) compararon la técnica de bolsas de nylon con la técnica *in vitro* de Tilley y Terry (1963), los cuales mencionan que las bolsas de nylon estiman en exceso la fermentación, la estimación excesiva está fuertemente relacionada con la composición de los carbohidratos de la dieta, particularmente en un tiempo corto de incubación que sugiere que la principal causa es una rápida fermentación (fracción “a”). En otros indican la posible subestimación de la perdida (Orskov y Ryle, 1990) de materia seca de las bolsas de nylon en periodos de incubación temprana debido a la adherencia de microorganismos (bacterias asociadas a la fracción sólida, BAS). Ambos métodos: *in vitro* (Tilley y Terry, 1963), e *in sacco* (Mehrez y Orskov, 1997), están basados en la determinación de residuos, y muchos resultados están sobreestimados en la digestibilidad de la materia seca del alimento que son ricos en taninos (polifenoles) (Makkar *et al.*, 1993), u otros compuestos que afectan la degradabilidad, debido a estas consideraciones, Menke y Stengass (1998), desarrollaron un método que permite estimar la fermentación de los alimentos en función de la producción de gas que

liberen la interacción de las bacterias y por lo tanto conocer de manera indirecta la degradación y fermentación.

4.3. Método *in vitro*

Los métodos *in vitro* tienen la ventaja de utilizar un mayor número de alimentos y repeticiones de los mismos, además, el mantenimiento de las condiciones experimentales permiten controlar una serie de factores intrínsecos (ejemplo: eliminar el efecto animal).

Las técnicas *in vitro* más utilizadas son: El método de Tilley y Terry (1963), el método de producción de gas (Menke y Steingass, 1988; Theodorou *et al.*, 1994) y actualmente el digestor Daisy.

Un eficiente método de laboratorio puede ser reproducible y correlacionarse con las medidas de parámetros *in vivo* (Getachew *et al.*, 1998). La técnica de Tilley y Terry (1963) se vuelven un importante instrumento para evaluar los alimentos para rumiantes y son ampliamente usados, particularmente cuando se requieren pruebas de alimentación a gran escala; es empleado en muchos laboratorios para la evaluación de forrajes e involucra dos etapas, en el cual, los forrajes son sometidos a una fermentación de 48 horas en solución buffer que contiene líquido ruminal y saliva artificial, seguido por 48 horas de digestión con pepsina en una solución ácida. El método fue modificado por Goering y Van soest (1970), en el que el residuo después de 48 horas de incubación es tratado con una solución neutro detergente para estimar la materia seca verdaderamente digestible (MSVD). Aunque el método de Tilley y Terry (1963) ha sido extensivamente validado con valores *in vitro* (Van Soest, 1994), los métodos aparecen con desventajas, es laborioso, la técnica no provee información de la cinética de digestión del forraje, ya que únicamente podemos determinar la degradabilidad en un solo tiempo, y el alimento presente en el rumen se degrada en diferentes tiempos en función de la actividad bacteriana y la naturaleza del alimento a incubar, la determinación de los residuos es gravimétrica, por lo tanto es necesario un número de réplicas que permitan obtener un valor promedio.

El sistema Daisy este sistema permite simplificar el proceso de medición de la degradación del alimento y consiste en una cámara aislada con temperatura controlada (39°C) y cuatro jarras independientes que giran permanentemente durante el proceso.

Cada jarra permite la incubación de 25 muestras que están en contacto con una solución tampón y líquido ruminal. Las muestras son incubadas en bolsas de poliéster/polietileno y se asume que el material que desaparece de la bolsa es digerido. Diferentes autores reportan que las predicciones de digestibilidad aparente y verdadera realizadas por este sistema son relativamente precisas (Vogel *et al.*, 1999). Por otra parte Mould y Nordheim (1998) adaptaron esta técnica para estimar además la tasa de degradación de la materia seca y otras fracciones de los alimentos, retirando bolsas de los frascos a diferentes tiempos de incubación.

Otra técnica, es la producción de gas (GP), desarrollada originalmente por Menke y Steingass (1988), es básicamente el resultado de la fermentación de los carbohidratos y la producción de ácidos grasos volátiles (acético, propionico y butírico), y gases CO₂ y CH₄. La producción de gas por la fermentación de proteína es relativamente menor en comparación con la fermentación de carbohidratos (Getachew *et al.*, 1998).

Las técnicas para medir la producción de gas han sido usadas para evaluar el valor nutritivo de los alimentos, el gas producido provee datos útiles de la digestión de fracciones solubles e insolubles de los alimentos (Getachew *et al.*, 1998). Hay dos formas para medir la fermentación microbiana de los alimentos a partir del volumen de gas producido *in vitro*: a) determina el volumen de gas producido a presión atmosférica, b) estimarlo a partir de los cambios de presión que tienen lugar en recipientes de volumen fijo (Theodorou *et al.*, 1994; Cone *et al.*, 1996).

Menke *et al.*, (1979) basaron su método en el empleo de jeringas de vidrio calibradas (100 ml) en las que se incuba el sustrato que se debe valorar con una mezcla 1:2 de líquido ruminal y una solución compuesta por un tampón bicarbonato-fosfato, soluciones de minerales y un agente reductor, la preparación del medio se lleva a cabo en un ambiente rico en CO₂. Por otro lado, Theodorou *et al* (1994) desarrollaron un método donde la incubación se lleva a cabo en botellas de vidrio (125 ml) provista de un tapón de goma y selladas herméticamente. Las botellas se llenan con un gramo de sustrato y 90 ml de solución de incubación (saliva Artificial) pero sin inóculo (líquido ruminal). Previo a su sellado son gasificadas con CO₂ y en un plazo no superior a 24 horas se inoculan al inyectar 10 ml de líquido ruminal por botella (Theodorou *et al.*, 1994).

Para la técnica de producción de gas, se prepara el medio de incubación con una mezcla, por orden (ml/l), agua destilada, solución de microminerales, 0.12; solución tampón, 237; resarzurina al 0.1%, 1.22 (Menke *et al.*, 1979).

Solución de micro minerales (100 ml): (13.2 g $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$) +(10 g $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$) +(1 g $\text{COCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$).

Solución tampón (11):(35 g NaHCO_3) +(4 g $(\text{NH}_4)(\text{HCO}_3)$).

Solución de macro minerales (11): (5.7g $\text{Na}_2 \text{HPO}_4$) +(6.2 g KH_2PO_4) +(0.6 g $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$).

Resarzurina 0.1% (100 ml): 0.1g resarzurina.

Se deben mantener las soluciones en refrigeración (para la resarzurina no es necesario), posteriormente se mezclan los ingredientes y se calientan a 38°C se gasea con CO_2 . Por otro lado, se colecta el líquido ruminal (líquido y sólido) con ayuda de una bomba de vacío, procedente de dos de los tres donadores, los cuales se recomienda que tengan una adaptación a una ración estándar (50:50 heno de alfalfa: paja de cebada) suplementados con 2% de minerales. Para la elaboración de la saliva artificial se adiciona el agente reductor (añadir 2 ml 1N NaOH a 47.5 ml de agua destilada, luego añadir 285 mg $\text{Na}_2\text{S} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. añadir a la mezcla de ingredientes (sin incluir líquido ruminal), y gasearla con CO_2 , hasta que vire de rosa a incolora. Si hay problemas con este reductor, emplear 3% L-cisteina HCL H_2O (0.5/l medio), y en tal caso, las proporciones ml/l de las distintas soluciones serían: H_2O ., solución microminerales, 0.13 ml; solución tampón, 249ml; resarzurina, 1.28 ml. Para el caso del líquido ruminal, homogenizar la solución, gaseando con CO_2 y se filtra por dos capas de gasa (o por colador de malla y capa de gasa) y posteriormente por lana de vidrio para eliminar las partículas pequeñas de alimento y protozoarios. Cuando la mezcla de ingredientes esta incolora, añadir el líquido ruminal y dejar mezclar, agitando y burbujeando con CO_2 durante 10 minutos, posteriormente llenar los frascos y se utiliza la técnica de Theodorou *et al.*, (1994), igualando el contenido a 90 ml de solución buffer y 10 ml de líquido ruminal, cerrar la válvula, mezclar agitando e incubar en el baño a 38°C, inmediatamente después de llenar y ajustar los frascos, registrar el volumen inicial (PSI), agitar una o dos veces las primeras tres o cuatro horas. Una vez realizada la incubación debemos realizar una serie de cálculos que nos permitan conocer la producción real de la muestra incubada, para ello utilizamos un

estándar (Std) (por ejemplo paja de cebada), previamente incubado y de la cual se conoce la producción de gas, además de frascos sin sustrato (blancos, blk).

CÁLCULOS

Sin estándar: se resta el valor medio de los blancos (GPblk) de cada lectura para cada hora (GPX) y se obtiene la media.

Con dos estándares: se resta los GPblk de las GPX y de los estándares, se refiere la producción de gas de ambos estándares a una cantidad de muestra fija de 800 mg MS (GPstd). Para validar la serie de incubación, se divide el valor contrastando de cada estándar con el obtenido en la serie. Si el valor frasco estándar (Fstd es mayor a 1.1 o menor de 0.9, se debe repetir la serie. Para calcular la producción de gas (GP, ml/800 mg MS)

$$GP=(GPX-GP\text{ Oh}-GPblk) \times 800 (Fstd\ 1 + Fstd\ 2)/2 \times \text{mg muestra.}$$

Una vez obtenidos los resultados, para compararlo se puede establecer la curva de degradación del alimento contra el tiempo utilizando la ecuación propuesta por Orskov y Mc Donald (1979), aunque esta última presenta sus limitaciones al asumir que la producción de gas es constante, o una modificación de la misma, fue propuesta por Khrisnamoorthy *et al.*, (1991) al eliminar la fracción rápidamente degradable (a) al asumir que las primeras horas de incubación son debidas a las bacterias y no al sustrato como tal, sin embargo un modelo que se ajusta de manera más real a la producción de gas podría ser el propuesto por France *et al.*, (1993), en el cual permite estimar que no está constante y depende del tiempo de colonización de las bacterias al sustrato. Así, a partir de la producción de gas y la composición química de los alimentos a estudio se puede estimar su contenido de energía metabolizable neta, la cantidad de MSd, MOd o las diferentes fracciones de fibra (FND; FAD) que han sido degradadas en función de la producción de gas. (ml gas/g MSd) (Menke y Steingass, 1998).

CAPITULO IV

4.4. MODELOS PARA ESTIMAR LA DEGRADACIÓN Y FERMENTACIÓN DE LOS ALIMENTOS

Para estimar la degradación efectiva *in sacco* e *in vitro*, de los diferentes sustratos una vez incubados, se utilizan las ecuaciones propuestas por diferentes autores, entre ellos se mencionan los siguientes:

Orskov y Mc Donald (1979)

Krishnamoorthy *et al.*,(1991)

France *et al.*, (1993)

Jessop y Herrero (1996)

Orskov y McDonald (1979)

4.4.1. Orskov y McDonald (1979), desarrollaron un método para describir el tiempo de degradabilidad para muestras individuales, el método implica realizar una serie de incubaciones en el rumen por un tiempo determinado.

Cinética de degradación

$$d = a + b(1 - e^{-ct})$$

Dónde:

d= porción del material desaparecido en el tiempo de incubación (g/100g)

a= fracción rápidamente degradable

b= fracción indegradable, pero potencialmente degradable en función del tiempo

c= tasa de degradación ruminal

t= tiempo de incubación (horas)

Degradabilidad efectiva

$$p = a + (b \cdot c) / (c + k)$$

Dónde:

p= degradabilidad efectiva (g/100g)

a= fracción rápidamente degradable

b= fracción indegradable, pero potencialmente degradable en función del tiempo

c= tasa de degradación ruminal

k= tasa de degradabilidad efectiva en función del estado físico del animal (k= 0.02, 0.05 y 0.08) para mantenimiento, crecimiento y lactación, respectivamente (AFRC, 1993).

4.4.2. Krishnamoorthy *et al.*, (1991)

La ecuación propuesta por Krishnamoorthy *et al.* (1991) es la siguiente:

$$Pg = b (1 - e^{-ct})$$

Dónde:

Pg= producción de gas (ml de gas/g⁻¹ MS inicial)

b= producción total de gas (ml de gas/g⁻¹ MS inicial)

c= tasa de degradación con respecto al tiempo (h)

t= tiempo (h)

$$v = D * (1 - e^{-k*t})$$

$$v = D * (1 - e^{-k*(t-l)})$$

Dónde:

v= producción acumulativa del gas en un momento dado (ml)

D= producción acumulativa potencial del gas (ml)

k= tasa de producción de gas (h⁻¹)

t= tiempo de la fermentación (horas)

l= retraso inicial para el inicio de la fermentación (h)

4.4.3. France *et al.*, (1993)

La producción de gas se estima por diferencia entre el valor registrado de cada frasco de los diferentes sustratos y el valor medio de producción de gas debida al blanco (frasco sin sustrato). Una vez calculada la producción de gas acumulada, se ajusta de acuerdo al modelo propuesto por France *et al.* (1993)

$$y = A [1 - \exp(-b^{(t-T)} - c^{(\sqrt{t} - \sqrt{T})})]$$

Dónde:

y= producción de gas acumulada (ml)

t= tiempo de incubación (h)

A= es la asíntota de la curva (producción total de gas en ml)

b= (h^{-1}) y c ($h^{-1/2}$) son constantes de producción de gas

T= representa el “lag time” (horas), que es el tiempo en que el alimento empieza a ser degradado por los microorganismos del rumen.

4.4.4. Jessop y Herrero (1996)

La ecuación propuesta por Jessop y herrero (1996) es la siguiente:

$$PG = a \times (1 - \exp(-c_a \times t)) + b \times (1 - \exp(-c_b \times (t - \text{lag}))) \times (t > \text{lag}) \times -1$$

Dónde:

a= producción de gas a las 24 horas (ml)

b= producción potencial de gas (ml)

c_a = tasa fraccional de producción de gas de la fracción a (h)

c_b = tasa fraccional de producción de gas de la fracción b (h)

lag= fase antes de que comience la fermentación de FND (h)

t= tiempo de incubación (h)

III. JUSTIFICACION

En años recientes se han desarrollado y liberado nuevas variedades de maíces híbridos para su producción en Valles altos a los cuales se les han evaluado desde el punto de vista agronómico y su calidad para la alimentación humana, dada la importancia que el maíz representa para la alimentación del ganado y su uso en sus diferentes formas de conservación se requieren de su evaluación, con la finalidad de generar información básica en cuanto a sus características productivas, nutritivas y su degradación por los rumiantes.

IV. HIPOTESIS

Los híbridos de maíz presentan mejores características nutricionales y una mayor producción de materia seca por hectárea que los maíces criollos tanto en fresco, henificados o conservados como ensilaje.

V. OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar el rendimiento, la composición química y la producción de gas *in vitro* de diferentes variedades de híbridos de maíz, en fresco, heno y conservados por ensilaje, con tres tratamientos.

ESPECIFICOS

Determinar el rendimiento en fresco y heno de 19 variedades de híbridos de maíz cultivados en valles altos de México.

Determinar la composición química en cuanto a proteína cruda (PC), fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD), así como la energía neta de mantenimiento (EN_m) y energía neta para lactación (EN_l) y la producción de gas *in vitro* de la planta entera de 19 variedades de maíces híbridos, conservados por ensilaje, con tres tratamientos.

Comparar el rendimiento, la composición química y su producción de gas *in vitro* entre las diferentes variedades de maíces híbridos, en fresco, heno y conservados por ensilaje, con tres tratamientos.

VI. MATERIAL Y METODOS

El experimento se realizó en Toluca, Estado de México, (99°39'14" Oeste y 19°37'32" Norte). Se evaluaron 17 variedades de híbridos de maíz (11 híbridos blancos: Aspros 723, Búho, CML 457/458, Cromo, H40, H47E, H51EA, H66, H70, Hit7 y Victoria; 6 híbridos amarillos: HIT13, CML460, PIONER, COBRE, CDMO80001 y CLO80902) y dos criollos locales: un blanco (CLB) y un amarillo (CLA); las cuales se cultivaron en el ciclo primavera-verano de 2009. La dosis de fertilización fue 150-90-70 NPK respectivamente aplicándose 50-90-70 al momento de la siembra, 50-00-00 en la primera escarda a los 45 días postsiembra y 50-00-00 en la segunda escarda; La densidad de población fue de 62,500 plantas por hectárea, cada unidad experimental tuvo una dimensión de 80 m², que a su vez constituyó 8 surcos, cada uno de 10 metros lineales por 80 cm de ancho, se dejó a cada lado un metro para salvaguardar el área experimental. El estudio tuvo una duración de 180 días, durante los cuales se realizaron escardas manuales para el control de malezas, así como la aplicación de herbicidas (Dicamba 264 g/ha, Atrazina 504 g/ha), al inicio de la siembra. Una vez obtenido el estado masoso del grano (180 d) se realizó la recolección de las variedades.

Para determinar el rendimiento en materia fresca y en materia seca (ton/ ha), se tomaron 3 m lineales por triplicado del centro de los surcos cuatro y cinco, el cual se pesó para determinar el rendimiento en fresco, se tomaron 1000 gramos de la muestra en fresco y se secaron en una estufa a 60°C, 48 h para determinar la cantidad de materia seca (por triplicado), para el heno se dejaron secar las muestras a la intemperie durante tres días hasta que alcanzaron un 30 % MS aproximadamente, para determinar el rendimiento en heno; se tomaron 1000 gramos de la muestra de heno y se secaron en una estufa a 60 °C, 48 h para determinar la cantidad de materia seca (MS), posteriormente las muestras fueron molidas (Molino General electric, Mod 5KH 390N 5525; 1 mm de diámetro), y se incineraron (550 °C, 3h) para la determinación de cenizas y por diferencia su concentración en materia orgánica (MO) (AOAC, 1991); la concentración de proteína (PC), fibra neutro detergente (FND), fibra acido detergente (FAD) y lignina acido detergente (LAD) se determino mediante espectrofotometría de infrarrojo utilizando un espectrofotómetro (Buchi, NIR FLEX N400) y software NIRCAL versión 4.01 (Buchi); la cantidad de energía metabolizable se determinó mediante la ecuación $EM = 14.51 - (0.143 \times ADF)$ y la energía neta para

lactación $ENL=9.14 - (0.0100 \times ADF)$, donde EM y ENL (Mj/kgMS) y ADF(g/kg MS) (Menke and Steingass, 1988).

Se tomaron tres muestras de forraje de cada variedad, se molieron a 5 cm (molino marca General electric, Mod 5KH 390N 5525) y se conservaron en microsilos (n=9), utilizando tres microsilos sin tratamiento como control (CTR), a tres microsilos se les adiciono Sil All® 10 g/ton (ENZ, *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici* y *Lactibacillus salivarius* y las enzimas celulasa, hemicelulasa, pentosanasa y amilasa), a otra parte (n=3) se le adiciono ácido acético al 1% como conservador químico (AAC); los micro silos se elaboraron colocando 1.5 kg de cada variedad de maíz en un tubo de PVC cubierto con una bolsa de polietileno, haciendo un buen compactado y sellado de las mismas eliminando la mayoría del oxígeno presente en el forraje. Después de dos meses de fermentación, las muestras se abrieron y se les determino el pH, (Conductronic modelo pH130), una parte de las muestras fueron secadas (60°C, 48 h) y molidas (1mm de diámetro) para determinar el contenido de materia seca (MS). El contenido de cenizas se determinó mediante incineración (550°C, 3 h) y el contenido de MO por diferencia. La concentración de proteína (PC), fibra neutro detergente (FND), fibra acido detergente (FAD) y lignina acido detergente (LAD) se determinó mediante espectrofotometría de infrarrojo utilizando un espectrofotómetro (Buchi, NIR FLEX N400) y software NIRCAL versión 4.01 (Buchi); la cantidad de energía metabolizable se determinó mediante la ecuación $EM (Mj/kgMS) = 14.51 - (0.143 \times ADF(g/kg MS))$ (Menke and Steingass, 1988).

Para la técnica de producción de gas *in vitro*, se utilizaron tres bovinos (450 kg PV), fistulados en rumen, como donadores de fluido ruminal. La producción de gas se determinó por el método propuesto por Theodorou *et al.*, (1994), para lo cual se utilizaron frascos de 125 ml, para cada muestra de forraje de maíz y método de conservación por triplicado, en tres series de incubación se pesaron 0.8 g MS de cada una de las muestras en los frascos, a los cuales posteriormente se les adicionaron 90 ml de solución buffer gaseado con CO₂ y 10 ml de líquido ruminal, previamente filtrado a través de cuatro capas de gasa y lana de vidrio, gaseado con CO₂ a 39°C, los frascos se introdujeron en un baño de agua a 39°C y se procedió al registro de producción de gas a las 0,3, 6, 9, 12, 18, 24 y 30 h utilizando un transductor de presión (DELTA OHM, Manometer, 8804).

Después del periodo de incubación (30 h) se liberó el gas acumulado y los residuos de la fermentación de cada frasco fueron secados (60°C, 48 h) para calcular la proporción de materia seca (MSd) desaparecida, la Fibra Neutro Detergente (FNDd) desaparecida y la producción de gas relativa (PGR, ml gas g⁻¹ MS desaparecida) (González-Ronquillo *et al.*, 1998).

Para estimar la degradación y fermentación de los alimentos se utilizó la ecuación propuesta por Krishnamoorthy *et al.* (1991):

$$P_g = b(1 - e^{-ct})$$

Dónde: P_g=producción de gas (mL gas g⁻¹ MS inicial; b=producción total (ml gas g⁻¹ MS inicial); c= tasa de degradación con respecto al tiempo; t=tiempo (h).

Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de 10 x 3, siendo los factores de variedad (10) y método de conservación (3), con tres repeticiones por tratamiento, mediante un análisis de varianza con el programa SAS (1999). Los promedios de cada variable se compararon con la prueba de Tukey a una P<0.05.

Se realizó un análisis factorial de componentes principales con el objetivo de reducir datos, mediante la generación de nuevas variables que brinden la explicación del mayor porcentaje de la varianza. Estas nuevas variables fueron utilizadas en un análisis de cluster para determinar la presencia de observaciones con características similares, Los grupos obtenidos fueron analizados mediante PROC MIXED de SAS, el modelo utilizado fue:

$$Y = X\beta + Z\gamma + \epsilon$$

Dónde: Y= Vector de los datos observados

X= Efecto fijo determinado por el grupo, variedad y tratamiento

β= Vector desconocido de los efectos fijos de los parámetros analizados (Grupo, Variedad, Tratamiento) con un diseño de matriz desconocida

γ = Vector desconocido de los efectos aleatorios de los parámetros con un diseño de matriz conocida (Z)

ξ = error aleatorio del vector desconocido

VII. LIMITE DE ESPACIO

El estudio se realizó en Toluca, estado de México (99°39'14" Oeste y 19°37'32" Norte), con clima clasificado como templado sub húmedo con lluvias en verano y una precipitación pluvial anual de 1,000 a 1,200 mm, con una temperatura media anual de 12 a 14°C, observándose 30°C como máxima y -5°C como mínima, y una altura de 2600 m sobre el nivel del mar (Estado de México, 2010).

VIII RESULTADOS

ARTICULO 1 ACEPTADO

Carta de aceptación del artículo 1

ANIMAL NUTRITION AND FEED TECHNOLOGY

Official Journal of the Animal Nutrition Association, India

Centre of Advanced Faculty Training in Animal Nutrition

Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar - 243 122, India

Dr. A.K. Pattanaik, MVSc, PhD, FNAVS, ERF (Aus)

Editor-in-Chief

August 04, 2013

Ref. Manuscript: ANFT#08SE-2013

Dear Dr. González-Ronquillo,

I am pleased to inform you that the above manuscript entitled “**Effect of the Addition of Enzymes in Chemical Composition and *In Vitro* Gas Production of Hybrid Maize Varieties Preserved by Silage in the Highlands**”

authored by **P.J.A. Ruiz, R.A. Ortiz, G. Peñuelas-Rivas, O.A. Morales, M.G. Gutiérrez, P.N. Pescador and M. González-Ronquillo** has been accepted for publication in the **Special Issue 2013 on “Exogenous Enzymes in Animal Nutrition-Benefits and Limitations”**.

Please find enclosed the ‘**Copyright Transfer Form**’, which you should immediately send back duly signed (if not sent earlier) so that we can proceed with the publication. Further, it has been decided to make it mandatory for the authors of the accepted papers to pay **USD \$100/-** as processing charges by DD or online transfer within a fortnight of receipt. You are therefore requested to send the requisite amount (as detailed in the accompanying invoice) along with the copyright transfer form. As per policy of the journal the corresponding author will receive a soft copy (PDF) of the published paper for personal use.

With best regards,

Yours sincerely

(A. K. Pattanaik) To

Dr. M González-Ronquillo

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Departamento de Nutrición Animal

Universidad Autónoma del Estado de México

Instituto Literario 100 Ote. 50000. Toluca, México

E mail: mrg@uaemex.mx

Encl: Invoice for processing charges

Effect of the addition of enzymes in chemical composition and *in vitro* gas production of hybrid maize varieties preserved by silage in the highlands

Ruiz PJA^{1,4}, Ortiz RA², Peñuelas-Rivas G², Morales OA³, Gutiérrez MaG³, Pescador SN², González-Ronquillo M^{2*}.

¹ Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 150. Acambay, Estado de México. 50300. México.

² Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Nutrición Animal, Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario 100 Ote. 50000. Toluca, México.

³ Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. El Cerrillo Piedras Blancas, s/n. Campus el Cerrillo, 50090. Toluca. México.

⁴ Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad Autónoma del Estado de México.

***Corresponding author: Dr. M González-Ronquillo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Nutrición Animal, Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario 100 Ote. 50000. Toluca, México. E mail: mrg@uaemex.mx**

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the chemical composition and *in vitro* gas production of ten varieties of corn hybrids (Owl, Copper, Chrome, H40, H47, H66, H70, HIT7, Pioneer 1832 and Victoria) cropped in the high valleys of Mexico, preserved by ensiling with three treatments, control (CTR), acetic acid 1% (AAC), or enzymes (ENZ, Sill all ® 10g/ton); samples were performed in micro-silos (n = 90); After 60 days, the micro-silages were opened. Once the data matrix was analyzed using two multivariate techniques ([i] The variables considered for the Principal Components Factor Analysis [PCFA] and [ii] Hierarchical Cluster Analysis [CA]). The first multivariate technique was to reduce the information and generate major factors. Cluster analysis shows the presence of four groups with different characteristics between the groups: G1 as energy Silages (H47 and Pioneer varieties), G2 protein silages (Chrome, H66, Victoria varieties), G3 easy degradability Silage (Copper, HIT7 varieties), and G4 Silage Balanced (Owl, H40, H70 varieties). Treatments AAC and ENZ in G2, and ENZ in G3 were higher in crude protein (CP) content than the rest of the treatments. Treatments with ENZ in G1, G2, and G3 had the highest neutral detergent fiber (NDF) content ($P < 0.01$). ME and NE_1 were higher for G1 treated with AAC, ENZ, and CTR and G2 CTR than the rest of the treatments. The lowest pH ($P < 0.01$) was for G2 and G4 treated as CTR and AAC, compared with G1 and G2 treated with AAC and ENZ. *In vitro* gas production (ml gas/g DM) was higher ($P < 0.05$) for G3 and G4 treated with enzymes compared with G1 CTR and AAC. There were no differences ($P > 0.05$) for *in vitro* dry matter digestibility, but NDF digestibility was higher ($P < 0.01$) for G1 treated with CTR, AAC and ENZ, G2 treated with CTR, and G4 treated with ENZ than the rest of the treatments. As a conclusion, the study show four groups that, depending on the focus, we can use energy silages (G1), protein silages (G2), easy degradability silage (G3), and silage Balanced (G4) in livestock production feeding.

Keywords: lactic acid bacteria, chemical composition, in vitro gas production

INTRODUCTION

The corn silage is the main source of livestock feed in the center of Mexico; this has led to the implementation of programs for choosing corn varieties with higher forage production (USDA, 2010). The increased demand for animal feed and the low availability of land for cultivation has necessitated the search for new varieties of hybrid maize (Johnson et al., 2003; Ivan et al., 2005), which implies the need for new alternatives with heterosis for increased nutritional value, both forage and grain.

The method of silage preservation is based on soluble carbohydrates converted to organic acids, mainly lactic acid, under anaerobic conditions through the lactic acid bacteria (McDonald *et al.*, 1991). To improve the silage process, chemical and biological additives have been employed (Adesogan and Salawu, 2004), which when combined with bacterial inoculants and enzymes, are one of the most commonly used for the rapid production of lactic acid, and consequently, the decrease of pH (Filya *et al.*, 2006). The technique of *in vitro* gas production (Menke and Steingass, 1988), or the modifications made by Theodorou *et al.* (1994), allow us to know the fermentation and degradation of food according to the nutritional quality and availability of nutrients for bacteria. The objectives of this study were to determine the chemical composition and *in vitro* gas production of whole plant corn silage, preserved with enzymes or chemical additives.

MATERIALS AND METHODS

Experimental site and treatments

The experiment was conducted in Toluca, State of Mexico (99°39'14" West and 19° 37'32" North). Ten corn varieties were evaluated: Owl, Copper, Chrome, H40, H47, H66, H70, HIT7, Pioneer 1832, and Victoria; which were grown in the spring-summer of 2009. Three samples were taken from each variety, grounded (General Electric mill, 390N 5KH Mod 5525; length 5 cm), and kept in micro-silos using three micro-silos per treatment: (1) control (CTR), (2) a bacterial-enzymatic compound, 10 g/ton (ENZ) (Sil All ®, Alltech, *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus salivarius* and enzymes cellulase, hemicellulase, pentosanase and amylase), and (3) acetic acid (AAC) 1% as a chemical preservative. The micro-silos were prepared by placing 1.5 kg of each variety of corn in a PVC tube (13 x 25 cm) and covering them with a polyethylene bag, compacting and sealing them well, and eliminating most of the oxygen present in the sample. After 60 days, the micro-silages were opened, the pHs were determined (Conductronic model pH130); 200g of sample were taken from each silage, dried in a forced air oven (60 °C, 48h), and ground in a Willey mill (2 mm diameter). Silage samples were analyzed for dry matter (DM), ash according to AOAC (1997). Crude protein (CP), Neutral detergent fiber (NDF) acid detergent fiber (ADF), and Lignin (ADL) levels were determined by Near infrared spectroscopy (Buchi NIR FLEX N400) and NIRCAl software version 4.01 (Buchi). Metabolizable energy (ME, Mj kg DM) and Net Energy Lactation (NE_L, Mj/kg DM), was determined by the equation proposed by (Menke and Steingass, 1988) :

$ME (Mj/kg DM) = 14.51 - (0.143 \times ADF)$; where ME = (Mj/kg DM) and ADF = (g/kg DM).

In vitro gas production

In vitro gas production (GP, ml gas/g DM) and *in vitro* dry matter digestibility (DMd) were determined following the technique described by Theodorou *et al.* (1994). 800 mg of DM sample was placed in a 125 ml flask and 90 mL of incubation solution (Menke and Steingass, 1988) was added to the flask, each treatment was run in triplicate. Rumen fluid was drawn

from three fistulated dairy cattle (500±20 kg LW) fed with alfalfa hay, corn stover, a concentrate (16 % CP; 11.7 ME, MJ/ kg DM), and a mineral supplement with *ad libitum* access to drinking water. The extracted rumen fluid was filtered through a triple layer of gauze, then was homogenized under CO₂ for 5 min, and finally 10 ml of rumen fluid were added to each bottle and incubated (three series) in a water bath at 39°C. Gas production was recorded at 3, 6, 9, 12, 24 and 30h using a pressure transducer (HD 8804, DELTA OMS). Additionally, three blanks per series of incubation were used (as well with three repetitions). At the end of the incubation, the residue was filtered and washed with distilled water and dried in an oven (65°C, 48 h) to determine the DMd and NDF disappearance (NDFd). Relative gas production (RGP, millilitres of gas from sample after 30 h/g DMd), was determined as in González Ronquillo *et al.* (1998). Results of gas production were fitted to the equation proposed by Krishnamoorthy *et al.* (1991):

$$GP = b (1 - e^{-ct})$$

Where GP= Gas production (*mL gas / g DM initial*); b=total gas production (*ml gas/g DM*); c= degradation rate with respect to the time; t=time (h).

Statistical Analyses

The data of the variables obtained were initially subjected to an exploratory analysis of tests for normality and multiple correlations to determine the feasibility of the data (Hair, Anderson, Tatham, & Black, 1999). The variables considered for the Principal Components Factor Analysis (PCFA) are shown in Table 1.

Insert Table 1

Once the data matrix was analyzed using two multivariate techniques ([i], PCFA and [ii], Hierarchical Cluster Analysis [CA]). The first multivariate technique was to reduce the information and generate major factors. These were rotated with Varimax, which allowed to

choose all data those that explanation of the variables presented (Garcia, 2008); with CA the cases were grouped according to the similarity and differences between cases, that is internally homogeneous and externally heterogeneous (Guisande *et al.*, 2006). For CA we only used the rotated factors with an eight value higher than 0.5 (Hair, et al., 1999); the clustering method was Ward's; the measure was the Euclidean distance squared. The PCFA was performed on SPSS version 15.0; the CA was performed with the statistical software STATISTICA version 7. These new variables were used for cluster analysis to determine the presence of observations with similar characteristics. Obtained groups were analyzed using SAS PROC MIXED (SAS, 1999); the model used was:

$$Y = XB + Z\gamma + \varepsilon$$

Where Y = the observed data vector; X = Fixed effect determined by the group, variety, and treatment; β = unknown vector of fixed effects parameters analyzed (group, variety, treatment) with an unknown design matrix; γ = unknown vector of random effects parameters with known design matrix (Z); ε = unknown random error vector

RESULTS AND DISCUSSION

PCA shows three factors (F), which together account for 85.6 % of the total variance as shown in Table 1; the F1 refers to the negative correlation energy content and fiber content, F2 refers to the component related to the contents of CP and ADL, F3 is related to the amount of OM and *in vitro* degradability of the corn silage.

CA was determined with the coordinates of the rotated factors (Figure 1), which show the presence of four groups, with different characteristics between groups. The characteristics of each group, with respect to its variables, are presented in Table 2; the groups (G) were G1

(energy silage), G2 (Silage protein), G3 (Easy degradability silage), and G4 (silage balanced), in which high quality levels observed for both energy and protein degradability.

Group 1 was characterized by higher ME and NE_1 and negative CP, NDF, ADF, and ADL; this group was also the lowest number of cases presented showing the varieties H47 and Pioneer 1832 (Table 2) similar values were founded by Corral-Luna et al. (2011). Group 2 had the lowest b fraction and negative NDF, but in contrast, had the best performance of the CP and the highest ADL, and included the varieties Cromo, H66 and Victoria (Table 2). Kung *et al.* (1993) did not find differences in the CP content in corn silages; on the other hand, Ruiz *et al.* (2009) found differences in the CP content in different corn silages varieties and treatments. Group 3 showed the highest MO and b fraction, but had the lowest values reported for ADF and negative for CP, ADF, ME, and NE_1 . This group included the varieties Cobre and Hit7; there were differences for the OM content ($P = 0.01$) between treatments. Ruiz *et al.* (2009) report differences in the OM content of different corn silage varieties, similar to the present study. Colombatto *et al.* (2003) found differences in the OM content in corn silages treated with enzymes compared with the control group, with higher values than the present study.

Table 2 Shows the four groups derived from the CA. G1 was characterized by energetic silages as H47 and Pioneer varieties; G2 present the protein silages which were Chrome, H66, and Victoria corn silages; G3 show the easy silage degradability which were Cooper and Hit7 varieties; and finally G4 show the balanced silages with the varieties Owl, H40, H70 and Chrome. There were differences between treatments ($P < 0.05$) the interaction groups and treatments ($P < 0.05$), Treatments AAC and ENZ in G2, and ENZ in G3 were higher in CP content than the rest of the treatments; Treatments with ENZ in G1, G2, and G3 had the highest NDF content ($P < 0.01$), ME and NE_1 was higher for G1 treated with AAC, ENZ and CTR and G2 CTR than the rest of the treatments, the lowest pH ($P < 0.01$) was for G2 and G4 treated as CTR and AAC compared with G1 and G2 treated with AAC and ENZ; *In vitro* gas production (ml gas/g DM) was higher ($P < 0.05$) for G3 and G4 treated with enzymes

compared with G1 CTR and AAC. There were no differences ($P > 0.05$) for *in vitro* Dry matter digestibility, but NDF digestibility was higher ($P < 0.01$) for G1 treated with CTR, AAC and ENZ, G2 treated with CTR, and G4 treated with ENZ than the rest of the treatments.

CONCLUSIONS

This study shows four groups that, depending on the focus, we can use energy silages (H47 and Pioneer varieties), protein silages (Chrome, H66, Victoria varieties), easy degradability silage (Copper, HIT7 varieties) and silage balanced (Owl, H40, H70 varieties) in livestock production feeding.

ACKNOWLEDGMENT

Mr. Ruiz Perez was granted for a CONACyT fellowship during his studies in the University Autonomous State of Mexico. We also thank Miss. Liz Hooper, LTC- University of North Texas for the critical review of the present manuscript.

REFERENCES

- Adesogan, A. T., and M. B. Salawu., 2004. Effect of applying formic acid, or *Lactobacillus buchneri* inoculants with or without homofermentative lactic acid bacteria on the fermentation characteristics and aerobic stability of intercropped pea-wheat silages and whole crop wheat or pea silages. *Journal Science Food Agriculture*. 84, 983-992.
- Colombato D.F., Mould M.K., Bhat R.H., Phipps, Owen E., 2003. In vitro evaluation of fibrolytic enzymes as additives for maize (*Zea mays* L.) silage. II: Effects on rate of

- acidification, fiber degradation during ensiling and rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. 111, 129-143.
- Corral-Luna A., Dominguez-Diaz D., Rodríguez-Almeida F.A., Villalobos-Villalobos G., Ortega-Gutiérrez J.A., Muro-Reyes A., 2011. Composición química y cinética de degradabilidad de ensilaje de maíz convencional y sorgo de nervadura café. *Revista Brasileira de Ciências Arícolas*. 6, 181-187.
- Filya I., Sucu E., Karabulut A., 2006. The effect of *Lactobacillus buchneri* on fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of maize silage. *Journal of Applied Microbiology*. 101, 1216-1223.
- Getachew G., Blummel M., Makkar H.P.S., Becker K., 1998. In vitro gas measuring techniques for assessment of nutrition quality of feeds: a review. *Animal Feed Science and Technology*. 72, 261-281.
- Gonzalez Ronquillo M., Fondevilla M., Barrios U.A., Newman Y., 1998. In vitro gas production from buffel grass (*Cenchrus ciliaris* L). Fermentation in relation to the cutting interval, the level of nitrogen fertilization and the season of growth. *Animal Feed Science and Technology*. 72, 19-35.
- SAGARPA 2010. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [en línea] <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/> Consultado 20 de junio 2012.
- Ivan S.K., Grant R.J., Weakley D., Beck J., 2005. Comparison of a corn silage hybrid with high cell-wall content and digestibility with hybrid of lower cell-wall content on performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 88, 244-254.
- Johnson L.M., Harrison J.H., Davidson D., Mahanna W.C., Shinnars K., 2003. Corn silage management: Effects of hybrid, chop length and mechanical processing on digestion and energy content. *Journal of Dairy Science*. 86, 208-231.

- Krishnamoorthy U., Soller H., Menke K.H., 1991. A comparative study on rumen fermentation or energy supplements in vitro. *Journal of Animal Physiology Animal Nutrition*. 65, 28-35.
- Kristensen N.B., Sloth K.H., Hojberg O., Spliid N.H., Jense, C., Thogersen and R., 2010. Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. *Journal of Dairy Science*. 93, 3764-3774.
- Kung L., and Shaver R., 2001. Interpretation and use of silage fermentation. Analysis reports. In: focus on forage. Wisconsin Team Forage. Vol. 3: No. 13.
- McDonald P., Henderson A.R., Heron S.J.E., 1991. *The Biochemistry of Silage*. Chalcombe Publications, London, UK, 340 pp.
- Menke K.H., and Steingass H. 1988. Stimulation of the energy fed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*. 28, 7-12.
- Muck R.E., and Bolsen K.K. 1991. Silage preservation and silage additive products. In: field guide for hay and silage management in North America. K. K. Bolsen, J. E. Baylor y M. E. McCullough. Assoc. West Des Moines IA. P. 105.
- Ranjit N.K., Taylor C.C., Kung Jr. L. 2002. Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. *Grass Forage Science*. 57. 73-81.
- Ruiz B.O., Castillo Y., Anchondo A., Rodríguez C., Beltrán R., La O O y Payan J. 2009. Efecto de las enzimas inoculantes sobre la composición del ensilaje de maíz. *Archivos de Zootecnia*. 58 (222):163-172.

SAS Statistical Analysis system Institute. User's Guide: Statistics version 8, Cary, NC. USA.
1999.

Theodorou M.K., Williams B.A., Dhanoa M.S., McAllan A.B., France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 48, 185-197.

Weinberg Z.G., and Muck R.E. 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiology Reviews*. 19, 53-68.

Figure 1. Dendrogram of 30 corn silage with 10 different corn varieties and three treatments, by Ward's method, square Euclidean distances.

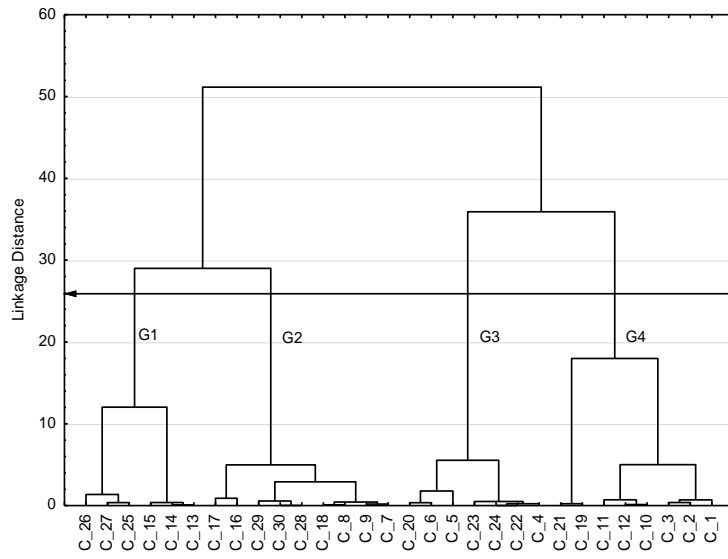


Table 1. Principal component analysis of 30 corn silages with 10 different corn varieties and three treatments

Rotated component matrix	Component		
	F1	F2	F3
CP	-0.23	0.87	-0.07
NDF	-0.85	-0.07	-0.07
ADF	-0.89	0.40	0.07
ADL	-0.15	0.84	0.30
ME	0.89	-0.41	-0.10
NE _l	0.89	-0.41	-0.10
OM	0.26	0.26	0.84
pH	0.62	0.24	-0.59
b	-0.20	0.03	0.82
<i>Total variance explicated</i>			
Total	3.70	2.11	1.88
% variance	41.14	23.52	20.92
% accumulated	41.14	64.66	85.59

KMO = 0.788, Extraction method, principal component analysis and rotation method: Varimax

Factor, F1 refers to the negative correlation energy content and fiber content, F2 refers to the component related to the contents of CP and ADL, F3 is related to the amount of OM and *in vitro* degradability of the corn silage.

Table 2 Corn silages Varieties derived from the cluster analyses

Energetic Silages			Protein Silages			Easy Silage Degradability			Balanced Silages		
Case	Variety	Tx	Case	Variety	Tx	Case	Variety	Tx	Case	Variety	Tx
C13,14,15	H47	CTR	C7,8,9	CHROME	CTR	C4,5,6	COPPER	CTR	C1,2,3	OWL	CTR
C25,26,27	PIONEER	CTR	C16,17,18	H66	CTR	C22,23,24	HIT7	CTR	C10,11,12	H40	CTR
C13,14,15	H47	AAC	C28,29,30	VICTORIA	CTR	C4,5,6	COPPER	AAC	C19,20,21	H70	CTR
C25,26,27	PIONEER	AAC	C7,8,9	CHROME	AAC	C22,23,24	HIT7	AAC	C1,2,3	OWL	AAC
C13,14,15	H47	ENZ	C16,17,18	H66	AAC	C4,5,6	COPPER	ENZ	C10,11,12	H40	AAC
C25,26,27	PIONEER	ENZ	C28,29,30	VICTORIA	AAC	C22,23,24	HIT7	ENZ	C19,20,21	H70	AAC
			C7,8,9	CHROME	ENZ				C1,2,3	OWL	ENZ
			C16,17,18	H66	ENZ				C10,11,12	CHROME	ENZ
			C28,29,30	VICTORIA	ENZ				C19,20,21	H70	ENZ

Values are expressed as means of different literals indicate significant difference ($P < 0.05$), Tx, treatment; CTR, control group untreated; ENZ, treatment with enzymes (Sill All ®); AAC, acetic acid treatment.

Table 3. Nutritional composition of four groups of silage corn under three different treatments using PROC MIXED, SAS.

N	Group	Tx	CP	NDF	ADF	ADL	ME	NE _L	OM	pH	b	c	Lag time	DMd	RGP	FNDd
6	1	CTR	87*	519*	309*	60*	10.10*	6.05*	920*	4.64	253*	0.05	2.00	48.5	312	56.5*
6	1	AAC	92*	506*	312*	65*	10.04*	6.02*	936	4.78*	292*	0.04	1.41	49.6	341	57.2*
6	1	ENZ	89*	528*	322*	58*	9.90*	5.91*	927	4.33*	314	0.05	1.42	52.6	365	55.1*
9	2	CTR	82	511	314	62*	10.01*	5.99*	930*	3.98*	295	0.05	1.50	56.8	378	54.3*
9	2	AAC	106*	540	343	64	9.60	5.71	930	4.00*	282	0.05	1.33	51.4	381	51.4*
9	2	ENZ	105*	555*	348*	73*	9.53	5.66	922	4.19	328	0.05	1.46	51.4	386	50.1*
6	3	CTR	93	520	327	84*	9.82*	5.86*	936*	4.28	300	0.05	1.37	51.1	409	52.4*
6	3	AAC	89*	532	330	67*	9.79	5.84	934*	4.68*	338	0.04	1.45	52.6	384	50.1*
6	3	ENZ	109*	557*	359*	72*	9.37	5.55	928*	4.80*	310*	0.04	1.41	50.4	354	50.6*
9	4	CTR	93*	545	341	70*	9.63*	5.73*	922*	3.88*	295	0.05	1.38	52.3	357	52.6*
9	4	AAC	88*	532	331	68	9.77	5.83	927	4.16*	322	0.05	1.30	53.9	398	51.4*
9	4	ENZ	94*	523*	332*	69*	9.75	5.81	926	4.36	321*	0.05	1.47	55.3	422	55.5*
SEM			0.27	0.86	0.61	0.55	0.01	0.01	0.05	0.02	3.42	0.00	0.05	2.07	33.7	1.20
Residual			6.65	65.34	33.35	26.51	0.01	0.001	0.26	0.05	1042	0.01	0.18	3.25	2.55	3.65
<i>P value</i>																
G			1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.13	0.59	0.01
Tx			0.01	0.01	0.01	0.17	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.20	0.25	0.89	0.69	0.20
G*Tx			0.05	0.01	0.01	0.21	0.01	0.01	0.02	0.02	0.05	0.67	0.65	0.13	0.59	0.01

Values are expressed as means, *, $P < 0.05$; Tx = Treatment; G, Group; Group 1, energetic silages; Group 2, Protein silages; G3, easy silage degradability; G4, Balanced silages; Tx, treatments; CTR, Control group untreated; ENZ, treatment with enzymes (Sill All ®); AAC, acetic acid treatment.

Values are expressed as means; b, total gas production (ml gas / g DM incubated); c, range of fermentation (h); Lag time (initial fermentation time); DMd% , percentage of DM disappeared; RGP, relative gas production (mL gas / g DMd%); NDFd%, percentage of NDF disappeared.

ME, Metabolizable energy (Mj/ kg DM); NE_L, Net energy lactation (Mj/ kg DM) ; b = total gas production (ml gas / g DM incubated); c = range of fermentation (h) Lag time (initial fermentation time).

ARTICULO 2

Carta de aceptación del artículo 2

ANIMAL NUTRITION AND FEED TECHNOLOGY

Official Journal of the Animal Nutrition Association, India

Centre of Advanced Faculty Training in Animal Nutrition

Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar - 243 122, India

Dr. A.K. Pattanaik, MVSc, PhD, FNAVS, ERF (Aus)

Editor-in-Chief

August 04, 2013

Ref. Manuscript: ANFT#09SE-2013

Dear Dr. González-Ronquillo,

I am pleased to inform you that the above manuscript entitled "**Chemical Composition and *In Vitro* Gas Production from Different Varieties of Native and Hybrid Maize Silage with the Addition of Acetic Acid or Enzymes**" authored by **P.J.A. Ruiz, A.J. Moreno, A.Z.M. Salem, O. Castelan Ortega and M. Gonzalez-Ronquillo** has been accepted for publication in the **Special Issue 2013** on "**Exogenous Enzymes in Animal Nutrition-Benefits and Limitations**".

Please find enclosed the '**Copyright Transfer Form**', which you should immediately send back duly signed (if not sent earlier) so that we can proceed with the publication.

Further, it has been decided to make it mandatory for the authors of the accepted papers to pay **USD \$100/-** as processing charges by DD or online transfer within a for tonight of receipt.

You are therefore requested to send the requisite amount (as detailed in the accompanying invoice) along with the copyright transfer form. As per policy of the journal the corresponding author will receive a soft copy (PDF) of the published paper for personal use.

With best regards,

Yours sincerely

(A. K. Pattanaik)

To Dr. M González-Ronquillo

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Departamento de Nutrición Animal

Universidad Autónoma del Estado de México

Instituto Literario 100 Ote. 50000. Toluca, México

E mail: mrg@uaemex.mx

Encl: Invoice for processing charges

Effect of the addition of acetic acid or enzymes in chemical composition and *in vitro* gas production from different varieties of native and hybrid maize silage

Ruiz PJA¹, Peñuelas RG², Moreno AJ³, Pescador SN², González-Ronquillo M^{2*}.

¹ Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 150, carretera Acambay-bocto Km 3.5, Acambay, Estado de México, 50300.

² Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Nutrición Animal. Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto literario 100 Ote. Toluca, México. 50000.

³ Instituto de Capacitación Agrícola del Estado de México (ICAMEX), Rancho Arroyo, Carretera Almoloya s/n. Toluca, México.

*Corresponding author: mrg@uaemex.mx

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate and compare the chemical composition and *in vitro* gas production of corn white local native (WLN), corn yellow local native (YLN) and two varieties of corn hybrids (H-51EA and CL080001) silage, preserved by three treatments, control (CTR), the addition of acetic acid (AAC) or enzymes (**ENZ**), samples were prepared in microsilos (n = 27) for 60 days, and analyzed in 4 x 3 factorial design. The dry matter content (g / kg) was higher (P < 0.01) for CLO80001, and lower for YLN, OM content

was higher ($P < 0.01$) CLO80001 compared with the natives, regarding treatments, OM in ENZ was higher ($P < 0.01$) with respect to AAC and CTR, CP content differs by variety and treatments, WLN variety was higher ($P < 0.01$) and the lowest CP was for CLO80001. CTR and AAC was higher in CP ($P < 0.01$) than ENZ treatment. NDF and ADF content was higher ($P < 0.01$) for WLN than YLN and the hybrids (CLO80001 and H51EA). The highest gas production (ml gas / g DM) ($P < 0.01$) was for hybrids (CLO80001 and H51EA) compared with local corn natives. There were no differences ($P > 0.05$) for fraction c and lag time between varieties, DMd was higher ($P < 0.01$) for CLO80001 and WLN than H51EA. The RGP was higher for H51EA ($P < 0.01$) compared to the rest. ME (MJ / kg DM) was higher ($P < 0.01$) for CLO80001 > H51EA > YLN > WLN. Regarding the effect of treatment, there were no differences ($P > 0.05$) except for ME ($P < 0.01$), which were higher ENZ and AAC than CTR. The WLN variety proves to be the best option for feeding cattle, as it turned out better than the rest of the varieties tested. The addition of ENZ improves the characteristics of the silage.

Keywords: enzymes, acetic acid, chemical composition, in vitro gas production, native corns, silage.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar y comparar la composición química y la producción de gas *in vitro* de dos maíces criollos locales blanco (WLN), y amarillo (YLN) y dos variedades de maíces híbridos (H-51EA y CLO80001) conservados por ensilaje con tres tratamientos, control (CTR), la adición de ácido acético (AAC) o enzimas (ENZ), las muestras se prepararon en microsilos ($n = 12$) y se dejaron fermentar durante 60 días, para el análisis se

utilizo un diseño factorial 4x3. El contenido de materia seca (g / kg) fue mayor ($P < 0.01$) para CLO80001, y menor para YLN, el contenido de MO fue mayor ($P < 0.01$) para CLO80001 comparado con los maíces criollos, en cuanto a los tratamientos, OM en ENZ fue mayor ($P < 0.01$) con respecto a AAC y el CTR, el contenido de PC es diferente según las variedades, los tratamientos, la variedad WLN fue mayor ($P < 0.01$) y el más bajo fue para CLO80001. CTR y AAC fueron mayores en el contenido de CP ($P < 0.01$) que el tratamiento ENZ. El contenido de FDN y FDA fue mayor ($P < 0.01$) para WLN que YLN y los híbridos (CLO80001 y H51EA). La mayor producción de gas (ml gas / g MS) ($P < 0.01$) fue para los híbridos (CLO80001 y H51EA) en comparación con los criollos locales. No hubo diferencias ($P > 0.05$) para la fracción C y el tiempo inicial de fermentación entre variedades, DMd fue mayor ($P < 0.01$) para CLO80001 y WLN que H51EA. La RPG fue mayor para H51EA ($P < 0.01$) en comparación con el resto. ME (MJ / kg MS) fue mayor ($P < 0.01$) para CLO80001 >> H51EA > YLN > WLN. En cuanto al efecto del tratamiento, no hubo diferencias ($P > 0.05$), excepto para ME ($P < 0.01$), que fueron superiores ENZ y AAC con respecto al CTR. La variedad WLN resulta ser la mejor opción para la alimentación del ganado, ya que resultó mejor que el resto de las variedades evaluadas. La adición de ENZ mejora las características del ensilado.

Palabras clave: Enzimas, ácido acético, composición química, producción de gas *in vitro*, maíces criollos, ensilado.

Abbreviations used: WLN (white local native); YLN (yellow local native); CTR (control); AAC (addition of acetic acid); ENZ (enzymes); OM (organic Matter); CP (crude protein); NDF (neutral detergent fiber); ADF (acid detergent fiber); DM (dry matter); DMd (dry matter disappeared); RPG (relative gas production); ME (metabolic energy); MJ (megajoules).

INTRODUCTION

The corn silage is the main source of livestock feed in the center of Mexico, this has led to implement programs to choosing corn varieties with higher forage production (SIAP-SAGARPA, 2010). The increased demand for animal feed and the low availability of land for cultivation has necessitated the search for new varieties of hybrid maize (Johnson *et al.*, 2003; Ivan *et al.*, 2005), which implies the need for new alternatives with heterosis for increased nutritional value either forage and grain.

The method of silage preservation is based on convert the soluble carbohydrates in organic acids, mainly lactic acid under anaerobic conditions by lactic acid bacteria. The technique of in vitro gas production (Menke and Steingass, 1988), or the modifications by Theodorou *et al.* (1994) simulating the digestive processes generated from microbial production (Getachew, 1998), allows to know the fermentation and degradation of food according to the nutritional quality and availability of nutrients for ruminal bacterias. The objectives of this study were to determine the chemical composition, and in vitro ruminal fermentation of whole plant corn silage preserved without additive and the addition of enzymes or chemical acids, in two local natives varieties and two hybrids grown in highland Mexico.

MATERIALS AND METHODS.

The study was conducted in Toluca, State of Mexico (99 ° 39'14 "W. and 19 ° 37'32" North). Four varieties of corn were evaluated, White local native (WLN), Yellow local native (YLN), and the hybrids H-51 AE and CL080001, which were grown in the spring-summer 2009. The fertilization rate was applied respectively 150-90-70 NPK, applying 50-90-70 at planting time, and 50-00-00 in the first weeding at 45 days post seeding and 50-00-00 in the second weeding hoe. The population density was 62,500 plants per hectare, each experimental unit had a dimension of 80 m², which constituted 8 rows (10 x 0.80 m). The

study lasted 180 days, during which they performed manual weeding for weed control and herbicide application (Dicamba 264 g / ha, atrazine 504 g / ha) at early planting.

Three samples were taken from each variety, grounded (General Electric mill, 390N 5KH Mod 5525; length 5 cm diameter) and kept in microsilos, using three microsilos as untreated control (CTR), three microsilos were added a bacterial-enzymatic compound, 10 g / ton (ENZ) (Sil All ®, Streptococcus faecium, Lactobacillus plantarum, Pediococcus acidilactici and Lactobacillus salivarius and enzymes cellulase, hemicellulase, pentosanase and amylase), and other microsilos (n = 3) was added acetic acid (AAC) 1% as a chemical preservative, micro silos were prepared by placing 1.5 kg of each variety of corn in a PVC tube covered with polyethylene bag, making good compacted and sealing them eliminating most of oxygen present in the sample. After two months of fermentation, samples were opened and the pH were determined (Conductronic model pH130), a part of the samples were dried (60 °C, 48 h) and ground (1mm diameter) to determine the content dry matter (DM) (AOAC 1991). The ash content (550 ° C, 3 h) was determined and OM by difference. The concentration of crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and lignin was determined by infrared spectrophotometry using a spectrophotometer (Buchi NIR FLEX N400) and NIRCal software version 4.01 (Buchi), metabolizable energy was determined by the equation proposed by Menke and Steingass (1988).

$ME \text{ (Mj/kg DM)} = 14.51 - (0.143 \times ADF)$, where ME= (Mj/kg DM) and ADF = (g/kg DM)

For *in vitro* gas production technique, it was used three rumen fistulated dairy cattle (LW 450 ± 20 kg) as donors of rumen fluid. The animals received a diet of oat hay: alfalfa hay (50:50),

formulated to meet all of their nutrient requirements (NRC, 2001), and was supplied twice a day (8:00 and 16:00 hours). Fresh water was available to cows at all times.

Gas production was determined in 125 ml amber flask and three series of incubation for each sample of forage conservation method, using the technique proposed by Theodorou *et al.* (1994). In each flask were introduced 0.8 g DM of each of the samples then were added 90 ml of buffer solution (Menke & Steingass, 1998) gassed with CO₂ and stored (4 °C for 12 h), to next day were taken 700 ml of ruminal fluid and 300 g of solid rumen contents of each donor cattle, the homogenized mixture was filtered through four layers of gauze and glass wool subsequently, maintaining the rumen fluid at 39 °C was gassed with CO₂, and subsequently added to each flask 10 ml of ruminal fluid. Finally, the flasks were introduced into a water bath at 39 °C and initiated gas production record using a pressure transducer (DELTA OHM, Manometer, 8804). The volume of gas produced was recorded at 3, 6, 9, 12, 24 and 30 h incubation. For corrections were used two flasks without substrate as blank and barley straw as standard.

After the incubation period (30h), the accumulated gas was released and the fermentation residues of each flask were dried (60 °C, 48 h) to calculate the proportion of dry matter disappeared (DMd) and relative gas production (RGP, ml gas g DMd) according to Gonzalez Ronquillo *et al.* (1998).

The kinetics of gas production was determined by adjusting the model,

$$GP = b (1 - e^{-ct}) \quad [1]$$

Proposed by Krishnamoorthy *et al.* (1991); according to the model: b represents the total production of gas (ml gas/g initial DM); c the rate of degradation in relation to time (h^{-1}); and t time (h^{-1}).

Statistical Analysis

Samples were analysed in a completely randomized design with a 4x3 factorial arrangement, with varieties (4) and treatments (3), with three replicates each one, using an analysis of variance (SAS, 1999). The averages of each variable were compared with the Tukey test at $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

To improve the ensiling process, there have developed various types of additives. There were not significant differences ($P > 0.05$) for pH between varieties and treatments (Table 1), these results are different from those presented by Ruiz *et al.* (2009) and Filya *et al.* (2006) which evaluated corn silage inoculants, showing differences in pH between treatments, with pH lower than the present study, similarly Kristensen *et al.* (2010) found differences in pH by treatment and season among the year, when assessing silages of two maize varieties and three different treatments in three seasons, with similar values than those of the present study, Kung and Shaver (2001) founded that corn silage rarely has a pH above 4.2, which can be associated with very dry silage (over 42% dry) and pH 3.7 to 4.2 propose a normal range of 30 to 40% dry matter. Colombatto *et al.* (2003) found pH values below 4.0 in corn silage treated with enzymes in relation to other untreated silages, due to increased substrate available for fermentation. DM content was higher ($P < 0.01$) for CLO80001, and lowest for YLN, Ruiz *et al.* (2009) founded no differences in DM content in different corn hybrids, with

similar contents to those of the present study, Colombatto *et al.* (2003) found no differences in DM content of corn silage treated with enzymes with higher values than the present study (324.7 to 347.8 vs 176.4 to 222.9 vs g / kg DM), while Ranjit *et al.* (2002) reported differences in DM content of corn silage with four doses of *Lactobacillus buchneri* 40788 compared with a control group, OM content was higher ($P = 0.01$) for CLO80001 compared to corn natives, Ruiz *et al.* (2009) reported differences in the OM content per treatment, with similar results to those obtained in the present study, Colombatto *et al.* (2003) found differences in OM content of corn silage treated with enzymes in relation to other corn untreated, but with higher values than the present study (942.7 to 951.6 vs 913.1 to 933.2 vs g / kg DM respectively). OM content was higher ($P < 0.01$) for ENZ compared to AAC and CTR. CP content differs ($P < 0.01$) by variety and treatments, with a higher WLN ($P < 0.01$) and lower for CLO80001, CTR and AAC treatments were higher ($P < 0.01$) than ENZ, Ruiz *et al.* (2009) reported differences in the CP content in treatments and varieties, with similar results to those obtained in the present study. The content of NDF and ADF was higher ($P < 0.01$) for WLN compared with YLN, and higher to hybrids (CLO80001 and H51EA), Kung *et al.* (1993) show that CP, NDF and ADF were similar for all corn silage treated with two inoculants, on the contrary Ruiz *et al.* (2009) founded differences in CP, NDF and ADF per variety and treatment, while Ranjit *et al.* (2002) founded differences in NDF and ADF content in corn silage with four doses of *Lactobacillus buchneri* 40788 compared with a control group, this is due to increased utilization of the more soluble fraction of the corn plant in relation a fibrous fractions by the ENZ.

The highest gas production (ml gas / g DM) ($P < 0.01$) was for hybrids (CLO80001 and H51EA) compared with local natives (Table 2, Figure 1). There were not differences ($P > 0.05$) for fractional lag time and c fraction between varieties, the DMD was higher ($P < 0.01$) for CLO8001 and WLN compared with H51EA. The RGP was higher for H51EA ($P < 0.01$) compared to the rest. ME content was higher ($P < 0.01$) for CLO80001 > H51EA > YLN

>WLN. Regarding the effect of treatment (Figure 2), there were not differences ($P > 0.05$), except for ME, which were higher ($P < 0.01$) ENZ and AAC compared with CTR treatment, Corral-Luna et al. (2011) found values of ME from 9.62 to 10.46 MJ ME / kg DM in corn silage treated with additives, similar to those found in the present study. The results indicate that the addition of ENZ reduces the amount of CP, NDF and ADF, this may be due to the impact of enzymes in the inoculum, which may act to degrade the structural carbohydrates (Muck and Bolsen, 1991), but increases the amount of ME available.

CONCLUSIONS

Nutritive value and fermentation of corn silage can be improved with treatment of chemical or enzyme inoculants. Inoculation of corn silage with acetic acid or enzymes increased NDF digestibility and ME availability.

REFERENCES

AOAC, Official methods of analysis, Helrich editor., 15th ed. INC. VA, USA: Association of Official Analytical Chemist. 1991 (2).

Colombato DF, Mould MK, Bhat RH, Phipps, Owen E; In vitro evaluation of fibrolytic enzymes as additives for maize (*Zea mays* L.) silage. II: Effects on rate of acidification, fibre degradation during ensiling and rumen fermentation. Anim Feed Sci Tech 2003;(111):129-143.

Corral-Luna A, Dominguez-Diaz D, Rodríguez-Almeida FA, Villalobos-Villalobos G, Ortega-Gutiérrez JA & Muro-Reyes A. 2011. Composición química y cinética de

degradabilidad de ensilaje de maíz convencional y sorgo de nervadura café. *Revista Brasileira de ciencias agrícolas*, 6: 181-187.

Filya I, Sucu E, and Karabulut A; The effect of *Lactobacillus buchneri* on fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of maize silage; *Journal of Applied Microbiology*; 2006;101 1216-1223.

Getachew G, Blummel M, Makkar HPS, Becker K, In vitro gas measuring techniques for assessment of nutrition quality of feeds: a review. *Anim Feed Sci Tech* 1998;(72):261-281.

Gonzalez Ronquillo M, Fondevilla M, Barrios UA, Newman Y. in vitro gas production from buffel grass (*Cenchrus ciliaris L.*). Fermentation in relation to the cutting interval, the level of nitrogen fertilization and the season of growth. *Anim Feed Sci Tech* 1998;(72):19-35.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (en línea). Disponible en <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/> (revisado el 20 de junio 2012).

Ivan SK, Grant RJ, Weakley D, Beck J; Comparison of a corn silage hybrid with high cell-wall content and digestibility with hybrid of lower cell-wall content on performance of Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2005; (88): 244-254.

Johnson LM, Harrison JH, Davidson D, Mahanna WC, Shinnors K. Corn silage management: Effects of hybrid, chop length and mechanical processing on digestion and energy content. *J Dairy Sci.* 2003; (86): 208-231.

Krishnamoorthy U, Soller H, Menke KH. A comparative study on rumen fermentation or energy supplements in vitro. *J. Anim. Phys Anim Nutr* 1991;(65):28-35.

Kristensen NB, Sloth KH, Højberg O, Spliid NH, Jense, C, Thøgersen and R. Effects of microbial inoculants on corn silage fermentation, microbial contents, aerobic stability, and milk production under field conditions. *J Dairy Sci.* 2010; (93): 3764-3774.

Kung Jr, Chen JH, Kreck EM, Knutsen K. Effect of microbial inoculants on the nutritive value of the corn silage for lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 1993; 76: 3763-3770.

Kung L, Shaver R; Interpretation and use of silage fermentation. Analysis reports. In: focus on forage. Wisconsin Team Forage. 2001; Vol. 3: N° 13.

Menke KH, Steingass H. Stimulation of the energy fed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Anim Res Dev 1988;(28):7-12.

Muck RE, and Bolsen KK. Silage preservation and silage additive products. In: field guide for hay and silage management in North America. K. K. Bolsen, J. E. Baylor y M. E. McCullough. Ed. Natl. Feed ingred. Assoc. West Des Moines IA. P. 105. 1991.

Ranjit NK, Taylor CC, Kung Jr. L; Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. Grass forage Sci. 2002; (57):73-81.

Ruiz BO, Castillo Y, Anchondo A, Rodriguez C, Beltran R, La O O y Payan J. Efecto de las enzimas inoculantes sobre la composición del ensilaje de maíz. Arch. Zootec. 2009; 58 (222):163-172

SAS Statistical Analysis system Institute. User's Guide: Statistics version 8, Cary, NC. USA. 1999.

Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France J.A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Anim Feed Sci Tech 1994;(48):185-197.

Table 1 Chemical composition (g / kg DM) of corn silage (native and hybrid), preserved without additive (CTR) or with the addition of enzymes (ENZ) or acetic acid (ACC).

	VARIETY				SEM	<i>P value</i>	TREATMENT			SEM	<i>P value</i>
	YLN	CLO	H51EA	WLN			CTR	ENZ	ACC		
	80001										
pH	3.96	3.97	4.18	3.96	0.13	0.58	4.04	4.03	4.00	0.12	0.97
DM	176.4 ^f	222.9 ^d	185.4 ^e	185.4 ^e	0.60	0.01	171.8 ^e	203.1 ^d	202.6 ^d	0.52	0.01
OM	913.1 ^e	933.2 ^d	922.9 ^{de}	922.4 ^e	0.27	0.01	912.0 ^f	934.0 ^d	922.0 ^e	0.23	0.01
CP	90.3 ^e	82.2 ^f	104.9 ^d	106.4 ^d	1.81	0.01	97.4 ^d	90.6 ^e	99.9 ^d	1.57	0.01
NDF	554.4 ^e	534.6 ^f	522.2 ^f	574.9 ^d	4.99	0.01	558.7 ^e	532.7 ^f	548.2 ^d	4.33	0.01
ADF	340.5 ^e	317.9 ^f	321.3 ^f	355.5 ^d	3.84	0.01	348.8 ^d	322.1 ^f	332.3 ^e	3.33	0.01
Lignin	70.6 ^{de}	64.6 ^e	75.5 ^d	64.7 ^e	2.02	0.01	71.3	66.8	68.7	1.75	0.22
ME ¹	9.64 ^e	9.96 ^d	9.88 ^d	9.42 ^f	0.05	0.01	9.52 ^e	9.90 ^d	9.75 ^d	0.05	0.01

Values are expressed as means. Different letters in the same row indicate significant difference ($P < 0.05$), YLN = yellow local native, WLN = white local native.¹ ME, Mj/kg DM (Menke and steingass, 1988; where ME (Mj/kg DM)= 14.51- (0.143xADF), where ME= (Mj/kg DM) and ADF = (g/kg DM).

Table 2 In vitro gas production (ml gas / g DM) of corn natives and hybrids silage, preserved by the addition of additives.

	VARIETY				SEM	<i>P</i>	TREATMENT			SEM	<i>P value</i>
	YLN	CLO8001	H51EA	WLN			CTR	ENZ	AAC		
b	282.9 ^c	319.1 ^d	316.6 ^d	297.3 ^c	9.63	0.01	306.9	300.4	304.8	8.34	0.85
c	0.049	0.050	0.051	0.047	0.004	0.77	0.047	0.053	0.049	0.01	0.50
Lag time	1.36	1.40	1.42	1.34	0.15	1.92	1.44	1.43	1.28	0.13	0.65
DMd,%	63.2 ^{de}	65.0 ^d	59.6 ^e	63.5 ^d	1.03	0.01	61.4	63.7	63.3	0.94	0.16
NDFd,%	52.12	51.74	51.81	50.06	0.81	0.30	49.7 ^e	52.1 ^d	52.5 ^d	0.59	0.006
RGP	340.0 ^e	362.8 ^e	414.5 ^d	341.1 ^e	9.88	0.01	367.3	366.4	360.1	8.56	0.81

Values are expressed as means. of different literals indicate significant difference ($P < 0.05$), YLN = local Native yellow, white WLN = local Native, CTR = untreated, ENZ = treatment with enzymes (Sill All ®), AAC = acetic acid treatment.

b = total gas production (ml gas / g DM incubated), c = range of fermentation (h^{-1}) Lag time (initial fermentation time); DMd% = percentage of DM disappeared; RGP = relative gas production (mL gas / g DMd%); NDFd% = percentage of NDF disappeared.

Figure 1 in vitro gas production (ml gas / g DM) of corn silage by treatment (●, control-untreated,; *, enzyme (Sill All ®); and ▲, acetic acid).

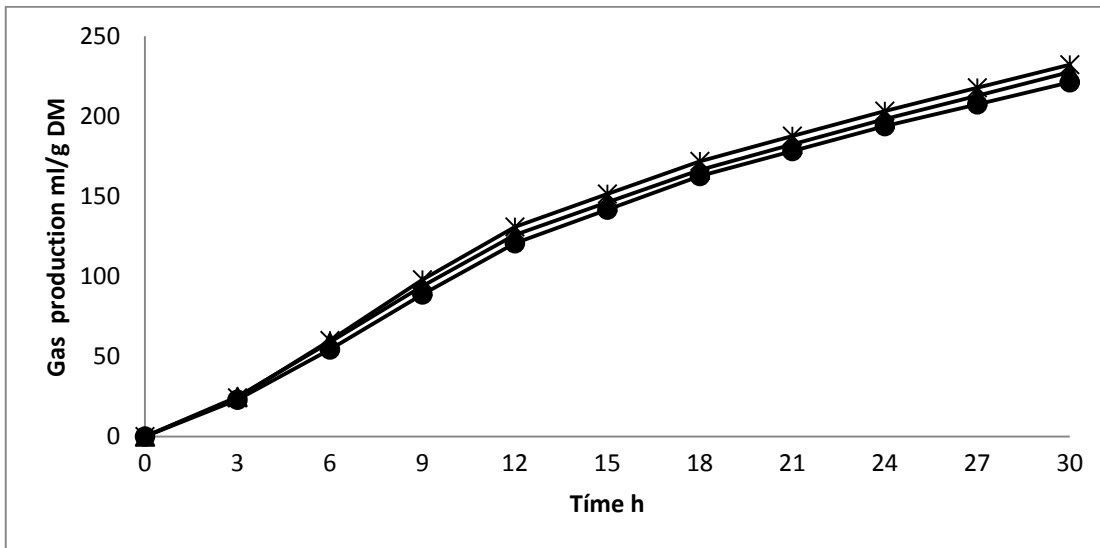
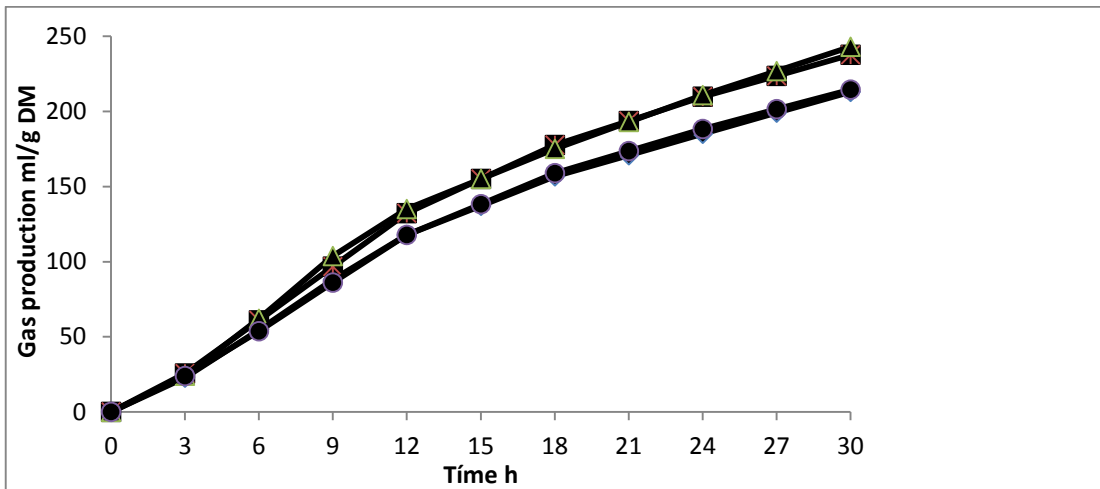


Figure 2 in vitro gas production (ml gas / g DM) of silage corn variety (◆, Yellow local native;■, CLO80001; ▲, H51EA and ●, White local native).



ARTICULO 3 ENVIADO (FORMATO REVISTA TROPICAL AND SUBTROPICAL AGROECOSISTEMS)

RENDIMIENTO, COMPOSICION QUIMICA Y PRODUCCION DE GAS *IN VITRO* DE
NUEVAS VARIETADES DE MAICES HIBRIDOS BLANCOS CULTIVADOS EN
VALLES ALTOS DE MEXICO

José Antonio Ruiz-Pérez¹, Manuel González-Ronquillo², Andrés Morales-Osorio³, María de Guadalupe Gutiérrez-Martínez³

¹Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 150, Acambay, estado de México.

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Nutrición Animal,

³Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario 100. Toluca, estado de México. México. 50000

Autor para correspondencia: Manuel González-Ronquillo, Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario 100. Toluca, estado de México. México. 50000. E-mail: mrg@uaemex.mx

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar y comparar el rendimiento, composición química y producción de gas *in vitro* en fresco y heno de un maíz criollo local blanco (CLB) y once variedades de maíces híbridos blancos (Aspros 723, Búho, CML 457/458, Cromo, H40, H47E, H51EA, H66, H70, Hit7 y Victoria), durante el ciclo primavera verano 2009, se encontraron diferencias en el rendimiento ($P < 0.05$) en fresco y en heno, con rendimientos de 60 a 117 ton/ha para fresco y de 17 a 29 ton/ha para heno respectivamente, en cuanto a su composición química (g/kg MS) mostraron diferencias ($P < 0.05$) para proteína, donde su concentración vario de 44 a 62 g/kg MS, FND de 581 a 629 g/kg MS y FAD de 297 a 344 g/kg MS; la producción de gas *in vitro* mostro diferencias ($P < 0.05$) para las fracciones b, c y lag time . No se encontraron diferencias ($P > 0.05$) para la materia seca desaparecida (612 a 669 g /kg MS). Se concluye que de acuerdo con los resultados obtenidos, las variedades H51EA, H47E y CLB son superiores con respecto al resto de las variedades estudiadas.

Palabras clave: Maíz, híbrido, rendimiento, composición química, producción de gas *in vitro*

1. INTRODUCCIÓN

El forraje de maíz es la principal fuente de alimentación del ganado en el centro de México, lo anterior ha conducido a implementar programas para la elección de variedades de maíz con mayor valor nutritivo (Antolín *et al.*, 2009). El incremento en la demanda de forraje y la baja disponibilidad de terreno para su cultivo ha requerido la búsqueda de nuevas variedades de maíces híbridos (Johnson *et al.*, 2003; Iván *et al.*, 2005), lo que implica la necesidad de buscar nuevas alternativas con la heterosis para su incremento en el valor nutricional del forraje y del grano. El maíz es el cereal más cultivado en el mundo y un 98% se emplea para la alimentación, mientras que el 2% restante tiene aplicación industrial (Naqvi *et al.*, 2011)

En México se siembran 535,620 hectáreas de maíz para forraje con una producción de 11, 778,483 toneladas de forraje y 7, 860,705 hectáreas para producción de grano con una producción de 23, 301,878 toneladas de grano y una participación del 90.84 % de maíz blanco, un 8.66% de amarillo y un pequeño porcentaje de otros colores (Sagarpa, 2010). La técnica de producción de gas *in vitro* (Menke y Steingass, 1988), o las modificaciones realizadas por Theodorou *et al.* (1994) simulando los procesos digestivos que se generan a partir de la producción microbiana (Getachew, 1998), permite conocer la fermentación y degradación del alimento en función de la calidad nutritiva y disponibilidad de nutrientes para las bacterias. Lo anterior permite conocer mejor las características nutricionales de los forrajes, así como su posible utilización para la alimentación de rumiantes. En México existen centros de investigación como son el Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y del Trigo (CIMMYT), el Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México (ICAMEX) y el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), los cuales han desarrollado diferentes variedades de maíces híbridos, que deben ser evaluados. El objetivo del presente estudio fue comparar el rendimiento, composición química y producción de gas *in vitro* del maíz criollo local con once variedades de maíces blancos híbridos.

2. MATERIAL Y METODO

2.1 Zona de estudio, siembra, y variedades de maíz.

El estudio se realizó en Toluca, estado de México (99°39'14" Oeste y 19°37'32" Norte). Se evaluaron las variedades de maíz de color blanco: Aspros 723, Búho, CML 457/458, Cromo, H40, H47E, H51EA, H66, H70, Hit7 y Victoria, y se utilizó el criollo local (CLB) como testigo; las cuales se sembraron el 12 de mayo de 2009. La dosis de fertilización fue 150-90-70 NPK respectivamente aplicándose 50-90-70 al momento de la siembra, 50-00-00 en la primera escarda a los 45 días postsiembra y 50-00-00 en la segunda escarda; La densidad de población fue de 62,500 plantas por hectárea, cada unidad experimental tuvo una dimensión de 80 m², que a su vez constituyó 8 surcos, cada uno de 10 metros lineales por 80 cm de ancho, se dejó a cada lado un metro para salvaguardar el área experimental y se sembraron tres repeticiones de cada variedad. El estudio tuvo una duración de 180 días, durante los cuales se realizaron escardas manuales para el control de malezas, así como la aplicación de herbicidas (Dicamba 264 g/ha, Atrazina 504 g/ha), al inicio de la siembra. Una vez obtenido el estado masoso del grano (180 d) se realizó la recolección de las variedades.

2.2 RENDIMIENTO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA

En el sitio de corte se tomaron tres muestras de cada variedad de maíz, para determinar su rendimiento en materia fresca y en materia seca (ton/ ha), tomando 3 m lineales por triplicado del centro de los surcos cuatro y cinco, el cual se pesó para determinar el rendimiento en fresco, se tomaron 1000 gramos de la muestra en fresco y se secaron en una estufa a 60°C, 48 h para determinar la cantidad de materia seca (por triplicado), para el heno se dejaron secar las muestras a la intemperie durante tres días hasta que alcanzaron un 30 % MS aproximadamente, para determinar el rendimiento en heno; se tomaron 1000 gramos de la muestra de heno y se secaron en una estufa a

60 °C, 48 h para determinar la cantidad de materia seca (MS), posteriormente las muestras fueron molidas (Molino General electric, Mod 5KH 390N 5525; 1 mm de diámetro), y se incineraron (550 °C, 3h) para la determinación de cenizas y por diferencia su concentración en materia orgánica (MO) (AOAC, 1991); la concentración de proteína (PC), fibra neutro detergente (FND), fibra acido detergente (FAD) y lignina acido detergente (LAD) se determinó mediante espectrofotometría de infrarrojo utilizando un espectrofotómetro (Buchi, NIR FLEX N400) y software NIRCAL versión 4.01 (Buchi); la cantidad de energía metabolizable se determinó mediante la ecuación $EM = 14.51 - (0.143 \times ADF)$ y la energía neta para lactación $ENL = 9.14 - (0.0100 \times ADF)$, donde EM y ENL (Mj/kgMS) y ADF (g/kg MS) (Menke and Steingass, 1988).

2.3 PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*.

Para la técnica de producción de gas *in vitro*, se utilizaron tres bovinos pardo suizo (450 ± 20 kg PV), fistulados en rumen, como donadores de fluido ruminal. La producción de gas se determinó por el método propuesto por Theodorou et al. (1994), para lo cual se utilizaron frascos ámbar de 125 ml para cada muestra de forraje de maíz y método de conservación por triplicado, en tres series de incubación se introdujeron 0.8 g MS de cada una de las muestras en los frascos, a los cuales posteriormente se les adicionaron 90 ml de solución buffer gaseado con CO₂, se tomaron 700 ml de líquido y 300 g de solido del contenido ruminal de cada uno de los animales y se mezcló. En el laboratorio se filtró a través de cuatro capas de gasa y posteriormente por lana de vidrio, manteniéndose el líquido ruminal gaseado con CO₂ a 39°C, en seguida se adicionaron 10 ml de fluido ruminal a cada frasco, finalmente se introdujeron los frascos en un baño de agua a 39°C y se procedió al registro de producción de gas a las 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 y 30 h utilizando un transductor de presión (DELTA OHM, Manometer, 8804). Después del periodo de incubación (30 h) se liberó el gas acumulado y los residuos de la fermentación de cada frasco fueron secados a 60°C durante 48 h para calcular la proporción de materia seca desaparecida (MSd) (AOAC, 2001) y fibra neutro detergente desaparecida (FNDd) sin corrección de cenizas y con alfa amilasa (Van Soest et al.,

1991) y producción de gas relativa (PGR, mL gas g⁻¹ MS desaparecida) (González Ronquillo et al, 1998).

Para estimar la degradación y fermentación de los alimentos se utilizó la ecuación propuesta por Krishnamoorthy et al. (1991):

$$Pg = b (1 - e^{-ct})$$

Dónde: Pg=producción de gas (mL gas g⁻¹ MS inicial; b=producción total (ml gas g⁻¹ MS inicial); c= tasa de degradación con respecto al tiempo; t=tiempo (h).

2.4 ANALISIS ESTADISTICO

Los datos de rendimiento y composición química del forraje se analizaron utilizando un diseño completamente al azar con arreglo factorial 12 x 2, considerando doce variedades y dos tratamientos (heno y fresco). La información fue computada mediante análisis de varianza con el programa SAS (1999), de acuerdo al siguiente modelo estadístico.

$$Y_{ijk} = \mu + \text{variedad}_i + \text{metodo}_j + (\text{variedad} \times \text{metodo})_{ij} + e_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = rendimiento y composición química

μ = media general

variedadⁱ = efecto de la variedad

metodo^j = efecto del método

(variedad x método)^{ij} = efecto de la variedad por el método

Los datos de producción de gas fueron analizados mediante el procedimiento GLM con el programa SAS (1999) de acuerdo con el modelo:

$$PG_{ijk} = \mu + \text{variedad}_i + \text{tiempo}_j + (\text{variedad} \times \text{tiempo})_{ij} + e_{ijk}$$

Donde

PG_{ijk} =volumen de gas observado

μ = media general

variedad_i= efecto de la variedad i

tiempo_j=efecto del tiempo de incubación j

(variedad x tiempo)_{ij} el efecto de la interacción entre la variedad y el tiempo de incubación.

Los promedios de cada variable ($P<0.05$) se compararon con la prueba de Tukey (Steel and Torrie, 1997).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los híbridos evaluados presentaron un rendimiento (Cuadro 1) que vario de 60 a 117 ton/ha de forraje en MF y de 17 a 29 toneladas en heno, los mayores rendimientos fueron para H70 en fresco y para H51 henificado encontrándose diferencias por variedad ($P<0.05\%$) no así por tratamiento ($P>0.05$); el rendimiento de forraje verde es superior a lo encontrado en diferentes híbridos (Carrillo *et al.*, 2005; González *et al.*, 2005), pero similar a Peña *et al.* (2008) y Tovar *et al.* (2006). En cuanto a los rendimientos en MS por ha son similares a Carrillo *et al.* (2005), González *et al.* (2005) y Peña *et al.* (2008) en un rango de 14 a 24 ton MS/ha. El cual puede verse afectado por la variedad, la distancia entre surcos, la densidad de población, el manejo, la fecha de siembra, el estado de madurez (Núñez *et al.*, 2003) y por la viabilidad de la semilla entre otros factores.

En cuanto a la composición química (Cuadro 1) se mostraron diferencias en el contenido de PC ($P<0.05$) con valores de 44 a 62 g/kg MS, el menor contenido fue para H47E , mientras que el mayor fue para H51; FND fue mayor ($P<0.05$) para H47E y menor para CML y Cromo; FAD fue superior ($P<0.05$) para las variedades H47E y Hit7 y el menor contenido para Cromo. Los valores de PC son inferiores a los encontrados por Núñez *et al.* (2003) y Antolín *et al.* (2009) quienes obtuvieron valores de 86 a 95 g PC/kg de MS, pero superiores en FND y FAD; lo anterior debido principalmente al estado de madurez, ya que se cortaron en forma tardía lo que ocasiona perdida de

proteína y un mayor contenido de pared celular, debido a que las variedades desarrolladas para valles altos son menos susceptibles al acame y dan lugar a incrementos en las concentraciones de pared celular en la hoja bandera y el tallo (Peña *et al.*, 2002), sin embargo, genotipos más tardíos tienden a producir mayor cantidad de pared celular y menor digestibilidad con respecto a los precoces (Peña *et al.*, 2002); en cuanto a la cantidad de EM y ENI, fue superior ($P < 0.05$) la variedad Cromo (10.3 Mj EM/kg MS) con valores similares a los obtenidos por Estrada *et al.* (2006) (9.6 a 10.5 Mj EM/kg MS), pero inferiores a los reportados por Johnson *et al.* (2003) (11.26 a 11.93 Mj EM/kg MS); en cuanto a la concentración de ENI (6.2 Mj ENI/KgMS) los valores son superiores a los encontrados por Calabro *et al.* (2007) (4.16 Mj ENL/kg MS), y similares a los reportados por Núñez *et al.* (2003) (5.02 a 6.69 Mj EN_L/kg MS), pero inferiores a los encontrados por Johnson *et al.* (2003) (6.48 a 6.78 Mj EN_L/kg MS), en México el contenido de energía en los maíces es menor que en otros países, esto se atribuye a que se ha dado mayor importancia al rendimiento por hectárea que al valor nutritivo (Núñez *et al.*, 2003).

En el Cuadro 2 se aprecia la producción de *gas in vitro* (ml gas / g MS) acumulada, donde se observaron diferencias para la producción total de gas entre variedades ($P < 0.05$) con la mayor producción para AS723 y la menor para la variedad Buho con 394 y 303 ml gas/g^l MS incubada respectivamente, con respecto a la fracción c, los mayores valores son para las variedades Buho y CLB y el menor para AS723, para la fracción lag time la variedad Buho fue superior, siendo menor para Hit7, estos resultados difieren de los reportados por Hetta *et al.* (2012) quienes no encontraron diferencia en la producción de gas de tres híbridos a las 72 horas de incubación, de igual forma Antolín *et al.* (2009) e Islam *et al.* (2012) no encontraron diferencias en la producción de gas, sin embargo Calabro *et al.* (2005) encontraron diferencias ($P < 0.05$) en la producción de gas de 300 a 400 ml de gas en ensilados de maíz frescos. En cuanto a la MSd no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) por variedad, en cuanto la FNDd fue mayor H47 ($P < 0.05$), mostrando una menor digestibilidad las variedades Cromo y H66 (361, 260 y 258 g FNDd/kg MS); en cuanto a la

PGR se encontraron diferencias ($P < 0.05$) entre variedades, con rangos de 348 a 392 ml gas/g MSd para las variedades H40 y AS723 respectivamente. Por tratamiento se encontraron diferencias ($P < 0.05$) en la composición química siendo superior el heno con respecto al fresco en PC, FND y FAD pero inferior en el contenido de EM y ENI, no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en la cantidad de LAD; para la producción de gas fue superior el fresco para las fracciones b, c al igual que para MSd, FNDd y PGR.

4. CONCLUSIONES

La producción de gas *in vitro* y la composición química se vieron afectados por el método de conservación; las diferencias en la composición química pueden estar asociadas al estado de madurez de la planta; la producción de gas *in vitro* fue mayor para los maíces conservados en fresco. De acuerdo con los resultados obtenidos las variedades H51EA, H47E y CLB son superiores con respecto al resto de las variedades estudiadas.

5. BIBLIOGRAFIA

Antolín, D. M., González Ronquillo, M., Goñi, C. S., Domínguez, V. I. A., Ariciaga, G. C. 2009. Rendimiento y producción de gas *in vitro* de maíces híbridos conservados por ensilaje o henificado. Tec Pecu Méx. **47(4)**:413-423.

AOAC. 1991. Official methods of analysis, Helrich editor., 15th ed. INC. VA, USA: Association of Official Analytical Chemist. (2).

Calabro, S., Cutrigneli, M. I., Piccolo, G., Bovera, F., Zicarelli, F., Gazaneo, M. P., Infascelli, F. 2005. *In vitro* fermentation kinetics of fresh and dried silage. Anim Feed Sci Tech. **123-124**:129-137.

Calabro, S., Tudisco, R., Grossi, M., Bovera, F., Cutrignelli, M.I., Guglielmelli, A., Piccolo, V., Infascelli, F. 2007. In vitro fermentation characteristics of corn and sorghum silage. *Ital J Anim Sci.* **6(2)**:559-562.

Estrada Flores, J. G., González Ronquillo, M., Mould, F. L., Arriaga Jordán, C. M., Castelán Ortega, O. A. 2006. Chemical composition and fermentation characteristics of grain and different parts of the stover from maize land races harvested at different growing periods in two zones of central Mexico. *J Anim Sci.* **82**:845-852.

Getachew, G., Blummel, M., Makkar, H. P. S., Becker, K. 1998. In vitro gas measuring techniques for assessment of nutrition quality of feeds: a review. *Anim Feed Sci Tech.* **72**:261-281.

Gonzalez Ronquillo, M., Fondevilla, M., Barrios, U. A., Newman, Y. 1998. In vitro gas production from buffel grass (*Cenchrus ciliaris L.*). Fermentation in relation to the cutting interval, the level of nitrogen fertilization and the season of growth. *Anim Feed Sci Tech.* **72**:19-35.

González, C. F., Peña, R. A., Nuñez, H. G., Jimenez, G. C. A. 2005. Efecto de la densidad y altura de corte en el rendimiento y calidad del forraje de maíz; *Rev. Fitotec. Mex.* **28**:393-397.

Hetta, M., Mussadiq, Z., Gustavsson, A. M., Swensson, C. 2012. Effects of hybrid and maturity on performance and nutritive characteristics of forage maize at high latitudes, estimated using the gas production technique; *Anim Feed Sci Tech.* **171**:20-30.

Ivan, S.K., Grant, R.J., Weakley, D., Beck, J. 2005. Comparison of a corn silage hybrid with high cell-wall content and digestibility with hybrid of lower cell-wall content on performance of Holstein cows. *J Dairy Sci.* **88**:244-254.

Islam, M. R., Garcia, S. C., Horadagoda, A. 2012. Effects of irrigation and rates and timing of nitrogen fertilizer on dry matter yield, proportions of plant fractions of maize and nutritive value

and *in vitro* gas production characteristics of whole crop maize silage. Anim Feed Sci Tech. **172**:125-135.

Johnson, L. M., Harrison, J. H., Davidson, D., Mahanna, W.C., Shinnars, K. 2003. Corn silage management: Effects of hybrid, chop length and mechanical processing on digestion and energy content. J Dairy Sci. **86**:208-231.

Krishnamoorthy, U., Soller, H., Menke, K. H. 1991. A comparative study on rumen fermentation or energy supplements *in vitro*. J. Anim. Phys Anim Nutr. **65**:28-35.

<http://sedagrotecnologia.wordpress.com/tag/maiz/> (disponible 08 de diciembre 2011, Estado de México 2010).

<http://www.siap.sagarpa.gob.mx/> (disponible 20 de junio 2012, SAGARPA 2010).

Menke, K. H., Steingass, H. 1988. Stimulation of the energy fed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Anim Res Dev. **28**:7-12.

Shaista Naqvi., Koreen Ramessar., Gemma Farre., Maite Sabalza., Bruna Miralpeix., Richard M., Twyman. Teresa Capell., Changfu Zhu., Paul Christou. 2011. High-value products from transgenic maize. Biotech Adv. **29**:40-53.

Núñez, H. G., Contreras, G. E. F., Faz C.R. 2003. Características agronómicas y químicas importantes en híbridos de maíz para forraje con alto valor energético. Téc Pecu Méx. **41(1)**:37-48.

Peña, R. A., Núñez, H. G., González, C. F. 2002. Potencial forrajero de poblaciones de maíz y relación entre atributos agronómicos con la calidad. Téc Pecu Méx. **40(3)**:215-228.

Peña, R.A., González, C. F., Núñez, H. G., Preciado, O. R., Terrón, I. A., Luna, F. M. 2008. H-376, híbrido de maíz para producción de forraje y grano en el bajío y la región norte centro de México. Rev. Fitotec. Mex. **31(1)**:85-87.

SAS Statistical Analysis system Institute. (1999). User's Guide: Statistics version 8, Cary, NC. USA.

Steel, R .G. D., Torrie, J. H. 1997. Principles and procedures of statistics a biomedical approach (2nded). New York, NY: Mc Graw Hill Book Co.

Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B., France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Anim Feed Sci Tech. **48**:185-197.

Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. **74**:3583-3597.

CUADRO 1 Rendimiento (ton MF y MS/ha) y composición química (g/kg MS) y concentración energética (ME, Nel, Mj/kg MS) de variedades de maíces blancos.

	Rendimiento				Composition quimica				
	Fresco	Heno	MO	PC	FND	FAD	LAD	EM	ENI
VARIEDAD									
AS723	60.00 ^g	16.98 ^g	955 ^d	52 ^{ef}	608 ^{def}	319 ^{ef}	47	10.0 ^{ef}	6.0 ^{ef}
BUHO	110.31 ^{de}	27.90 ^{de}	938 ^{de}	50 ^{fgh}	607 ^{def}	330 ^{de}	46	9.8 ^{fg}	5.9 ^{fg}
CLB	77.18 ^{fg}	17.83 ^g	922 ^{de}	57 ^{de}	599 ^{efg}	308 ^{fg}	54	10.1 ^{de}	6.1 ^{de}
CML	90.62 ^{def}	20.48 ^{efg}	948 ^d	52 ^{ef}	583 ^g	314 ^{efg}	41	10.1 ^{def}	6.0 ^{def}
Cromo	86.25 ^{efg}	22.68 ^{defg}	948 ^d	48 ^{fgh}	581 ^g	297 ^g	54	10.3 ^d	6.2 ^d
H40	86.25 ^{efg}	21.21 ^{efg}	939 ^{de}	58 ^d	587 ^{fg}	314 ^{efg}	51	10.1 ^{def}	6.0 ^{def}
H47	80.62 ^{efg}	21.44 ^{efg}	941 ^d	44 ^h	629 ^d	344 ^d	43	9.6 ^g	5.7 ^g
H51	98.75 ^{def}	29.42 ^d	901 ^e	62 ^d	588 ^{efg}	309 ^{fg}	46	10.1 ^{de}	6.1 ^{de}
H66	85.00 ^{efg}	19.38 ^{fg}	944 ^d	46 ^{fgh}	594 ^{efg}	312 ^{efg}	41	10.1 ^{def}	6.0 ^{def}
H70	116.87 ^d	25.47 ^{def}	942 ^d	51 ^{fg}	610 ^{def}	305 ^{fg}	41	10.2 ^{de}	6.1 ^{de}
HIT7	86.87 ^{defg}	25.28 ^{def}	953 ^d	45 ^{gh}	611 ^{de}	339 ^d	40	9.7 ^g	5.8 ^g
Victoria	91.66 ^{def}	19.98 ^{fg}	983 ^{de}	47 ^{fgh}	611 ^{de}	330 ^{de}	58	9.8 ^{fg}	5.9 ^{fg}
EEM	6.15	1.50	0.75	1.26	4.93	3.78	3.83	0.05	0.036
P Value	<0.0001	<0.0001	0.0031	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.013	<0.001	<0.001
TRATAMIENTO									
Heno			942	52 ^d	612 ^d	322 ^d	52	9.95 ^e	5.94 ^e
Fresco			936	50 ^e	590 ^e	315 ^e	41	10.03 ^d	6.00 ^d
EEM			0.309	0.51	2.01	1.54	1.56	0.02	0.01
P Value			0.15	0.0049	<0.0001	0.0051	<0.0001	0.005	0.005
Var*trat			0.137	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.367	<0.001	<0.001

^{def}Letras diferentes en la misma columna, son estadísticamente diferentes (P<0.05). EM=Energía Metabolizable (MJ/kg MS), ENL=Energía Neta para Lactación (Mj/kg MS), MO=Materia Orgánica, PC=Proteína Cruda, FND=Fibra Neutro Detergente, FAD=Fibra Acido Detergente, LAD =Lignina acido detergente.

CUADRO 2. Producción de *gas in vitro* (ml gas / g MS) de maíces blancos en fresco y henificados, utilizando la ecuación propuesta por Krishnamoorthy et al. (1991).

	b	c	Lag time	MSd	FNDd	PGR
VARIEDAD						
AS723	394 ^d	0.035 ^g	1.77 ^e	615	280 ^{fgh}	392 ^d
BUHO	303 ^j	0.048 ^d	2.73 ^d	613	291 ^f	362 ^{def}
CLB	311 ^{ij}	0.048 ^d	1.46 ^{ij}	642	290 ^f	361 ^{def}
CML	315 ^{ij}	0.044 ^{def}	1.43 ^j	637	324 ^e	358 ^{def}
Cromo	323 ^{hi}	0.045 ^{de}	1.62 ^{fg}	614	258 ^h	376 ^{def}
H40	329 ^{gh}	0.039 ^{efg}	1.50 ^{ij}	632	287 ^{fg}	348 ^f
H47	351 ^e	0.039 ^{fg}	1.54 ^{ghi}	646	361 ^d	363 ^{def}
H51	337 ^{fg}	0.042 ^{def}	1.65 ^f	669	265 ^{gh}	352 ^{ef}
H66	348 ^{ef}	0.042 ^{def}	1.53 ^{hi}	639	260 ^h	385 ^{def}
H70	338 ^{efg}	0.040 ^{efg}	1.59 ^{fgh}	612	297 ^f	376 ^{def}
HIT7	351 ^e	0.041 ^{efg}	1.26 ^k	620	324 ^e	388 ^{de}
Victoria	345 ^{ef}	0.041 ^{ef}	1.51 ^{hij}	664	330 ^e	359 ^{def}
EEM	2.71	0.0011	0.0176	1.49	4.93	7.97
P Value	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.074	<0.0001	0.0004
Heno	330 ^e	0.037 ^e	1.81 ^d	618 ^e	292 ^e	344 ^e
Fresco	344 ^d	0.047 ^d	1.45 ^e	649 ^d	303 ^d	393 ^d
EEM	1.10	0.0004	0.0072	0.610	2.01	3.255
P Value	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0006	0.0005	<0.0001
Var*trat	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

^{def}Letras diferentes en la misma columna, son estadísticamente diferentes (P<0.05). b= producción total de gas (ml gas g⁻¹ MS incubada); c= tiempo de fermentación (h¹), lag time (h¹); MSd= materia seca desaparecida (mg/g) a las 30 horas; FNDd= fibra neutro detergente desaparecida (mg/g); PGR= producción de gas relativa (ml gas g⁻¹ MSd).

ARTICULO 4 EN REVISION

RENDIMIENTO, COMPOSICION QUIMICA Y PRODUCCION DE GAS *IN VITRO* DE
NUEVAS VARIEDADES DE MAICES HIBRIDOS AMARILLOS CULTIVADOS EN
VALLES ALTOS DE MEXICO

José Antonio Ruiz-Pérez¹, Manuel González-Ronquillo², Nazario Pescador-Salas², Andrés Morales-Osorio³, María de Guadalupe Gutiérrez-Martínez³, Giovanna Peñuelas Rivas²

¹Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario No. 150, Acambay, estado de México.

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Nutrición Animal,

³Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario 100. Toluca, estado de México. México. 50000

Autor para correspondencia: Manuel González-Ronquillo, Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto Literario 100. Toluca, estado de México. México. 50000. E-mail: mrg@uaemex.mx

RESUMEN

El maíz es el forraje mas importante en la alimentación del ganado, debido a su mayor contenido de energía, sin embargo, se caracteriza por su amplia gama de variedades y la posibilidad de generar una gran cantidad de productos finales. El objetivo del presente estudio fue evaluar y comparar el rendimiento, composición química y producción de gas *in vitro* tanto en fresco como henificado de un maíz criollo local amarillo y seis variedades de maíces híbridos amarillos (HIT13, CML460, PIONER, COBRE, CDMO80001 y CLO80902), durante el ciclo primavera verano de 2009, el rendimiento en fresco y en seco no mostro diferencias entre tratamientos ($P>0.05$), en cuanto a su composición química (g/kg MS) mostraron diferencias ($P<0.05$) para proteína, donde su concentración vario de 53.5 a 73.7 g/kg MS, FND de 512 a 699 g/kg MS y FAD de 287 a 338 g/kg MS; la producción de gas *in vitro* mostro diferencias ($P<0.05$) en cuanto a tratamientos de las 3 a 18 h de incubación, no así ($P>0.05$) para las 24 y 30 h, por variedad mostro diferencias ($P<0.05$) a las 12 h siendo superior la variedad CLO80902 e inferior la variedad CML460. Se concluye que de

acuerdo con los resultados obtenidos, las variedades Pioneer y Hit 13 son superiores con respecto al resto de las variedades estudiadas.

Palabras clave: Maíz, híbrido, rendimiento, composición química, producción de gas *in vitro*

1. INTRODUCCIÓN

El forraje de maíz es la principal fuente de alimentación del ganado en el centro de México, lo anterior ha conducido a implementar programas para la elección de variedades de maíz con mayor valor nutritivo (Antolín *et al.*, 2009). El incremento en la demanda de forraje y la baja disponibilidad de terreno para su cultivo ha requerido la búsqueda de nuevas variedades de maíces híbridos (Johnson *et al.*, 2003; Iván *et al.*, 2005), lo que implica la necesidad de buscar nuevas alternativas con la heterosis para su incremento en el valor nutricional ya sea del forraje o del grano. El maíz es el cereal más cultivado en el mundo y un 98% se emplea para la alimentación mientras que el 2% restante tiene aplicación industrial (Naqvi *et al.*, 2011)

En México se siembran 535,620 hectáreas de maíz para forraje con una producción de 11,778,483 toneladas de forraje y 7,860,705 hectáreas para producción de grano con una producción de 23,301,878 toneladas de grano y una participación del 90.84 % de maíz blanco, un 8.66% de amarillo y un pequeño porcentaje de otros colores (Sagarpa, 2010). La técnica de producción de gas *in vitro* (Menke y Steingass, 1988), o las modificaciones realizadas por Theodorou *et al.* (1994) simulando los procesos digestivos que se generan a partir de la producción microbiana (Getachew, 1998), permite conocer la fermentación y degradación del alimento en función de la calidad nutritiva y disponibilidad de nutrientes para las bacterias. Lo anterior permite conocer mejor las características nutricionales de los forrajes, así como su posible utilización para la alimentación de rumiantes. En México existen centros de investigación como son el Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y del Trigo (CIMMYT), el Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Acuícola y Forestal del Estado de México (ICAMEX) y el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), los cuales han desarrollado diferentes variedades de maíces híbridos, que deben ser evaluados. El objetivo del presente estudio fue comparar el rendimiento, composición química y producción de gas *in vitro* del maíz criollo local con seis variedades de maíces amarillos híbridos.

2. MATERIAL Y METODO

2.1 Zona de estudio, siembra, y variedades de maíz.

El estudio se realizó en Toluca, estado de México (99°39'14" Oeste y 19°37'32" Norte), con clima clasificado como templado sub húmedo con lluvias en verano, una precipitación pluvial anual de 1,000 a 1,200 mm, temperatura media anual de 12 a 14°C, observándose 30°C como máxima y -5°C como mínima, y una altura de 2600 m sobre el nivel del mar (Estado de México, 2010).

Se evaluaron las variedades de maíz de color amarillo: HIT 13, CML 460-461-462, PIONER 1832, COBRE, CMD 080001, CL 080902, y se utilizó el criollo local (Clocal) como testigo; las cuales se sembraron el 12 de mayo de 2009. La dosis de fertilización fue 150-90-70 NPK respectivamente aplicándose 50-90-70 al momento de la siembra, 50-00-00 en la primera escarda a los 45 días postsiembra y 50-00-00 en la segunda escarda; La densidad de población fue de 62,500 plantas por hectárea, cada unidad experimental tuvo una dimensión de 80 m², que a su vez constituyó 8 surcos, cada uno de 10 metros lineales por 80 cm de ancho, se dejó a cada lado un metro para salvaguardar el área experimental y se sembraron tres repeticiones de cada variedad. El estudio tuvo una duración de 180 días, durante los cuales se realizaron escardas manuales para el control de malezas, así como la aplicación de herbicidas (Dicamba 264 g/ha, Atrazina 504 g/ha), al inicio de la siembra. Una vez obtenido el estado masoso del grano (180 d) se realizó la recolección de las variedades.

2.2 RENDIMIENTO Y COMPOSICIÓN QUÍMICA

En el sitio de corte se tomaron tres muestras de cada variedad de maíz, para determinar su rendimiento en materia fresca y en materia seca (ton/ ha), tomando 3 m lineales por triplicado del centro de los surcos cuatro y cinco, el cual se peso para determinar el rendimiento en fresco, se tomaron 1000 gramos de la muestra en fresco y se secaron en una estufa a 60°C, 48 h para determinar la cantidad de materia seca (por triplicado), para el heno se dejaron secar las muestras a

la intemperie durante tres días hasta que alcanzaron un 80 % MS aproximadamente, para determinar el rendimiento en heno; se tomaron 1000 gramos de la muestra de heno y se secaron en una estufa a 60 °C, 48 h para determinar la cantidad de materia seca (MS), posteriormente las muestras fueron molidas (Molino General electric, Mod 5KH 390N 5525; 1 mm de diámetro), y se incineraron (550 °C, 3h) para la determinación de cenizas y por diferencia su concentración en materia orgánica (MO) (AOAC, 1991); la concentración de proteína (PC), fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido detergente (LAD) se determinó mediante espectrofotometría de infrarrojo utilizando un espectrofotómetro (Buchi, NIR FLEX N400) y software NIRCAL versión 4.01 (Buchi); la cantidad de energía metabolizable se determinó mediante la ecuación $EM = 14.51 - (0.143 \times ADF)$ y la energía neta para lactación $ENL = 9.14 - (0.0100 \times ADF)$, donde EM y ENL (Mj/kgMS) y ADF(g/kg MS) (Menke and Steingass, 1988).

2.3 PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*.

Para la técnica de producción de gas *in vitro*, se utilizaron dos bovinos (450 ± 20 kg PV), fistulados en rumen, como donadores de fluido ruminal. La producción de gas se determinó por el método propuesto por Theodorou et al. (1994), para lo cual se utilizaron frascos ámbar de 125 ml para cada muestra de forraje de maíz y método de conservación por triplicado, en tres series de incubación se introdujeron 0.8 g MS de cada una de las muestras en los frascos, a los cuales posteriormente se les adicionaron 90 ml de solución buffer gaseado con CO₂, se tomaron 700 ml de líquido y 300 g de sólido del contenido ruminal de cada uno de los animales y se mezcló. En el laboratorio se filtró a través de cuatro capas de gasa y posteriormente por lana de vidrio, manteniéndose el líquido ruminal gaseado con CO₂ a 39°C, en seguida se adicionaron 10 ml de fluido ruminal a cada frasco, finalmente se introdujeron los frascos en un baño de agua a 39°C y se procedió al registro de producción de gas a las 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 y 30 h utilizando un transductor de presión (DELTA OHM, Manometer, 8804). Después del periodo de incubación (30 h) se liberó el gas acumulado y los residuos de la fermentación de cada frasco fueron secados a 60°C durante 48 h para calcular la

proporción de materia seca (MSd) (AOAC, 2001) y fibra neutro detergente desaparecida (FNDd) sin corrección de cenizas y con alfa amilasa (Van Soest *et al.*, 1991) y producción de gas relativa (PGR, mL gas g⁻¹ MS desaparecida) (González Ronquillo *et al.*, 1998; Estrada *et al.*, 2006).

Para estimar la degradación y fermentación de los alimentos se utilizó la ecuación propuesta por Krishnamoorthy *et al.* (1991):

$$Pg = b (1 - e^{-ct})$$

Dónde: Pg=producción de gas (mL gas g⁻¹ MS inicial; b=producción total (ml gas g⁻¹ MS inicial); c= tasa de degradación con respecto al tiempo; t=tiempo (h).

2.4 ANALISIS ESTADISTICO

Los datos de rendimiento y composición química del forraje se analizaron utilizando un diseño completamente al azar con arreglo factorial 7 x 2, considerando siete variedades y dos tratamientos (heno y fresco). La información fue computada mediante análisis de varianza con el programa SAS (1999), de acuerdo al siguiente modelo estadístico.

$$Y_{ijk} = \mu + \text{variedad}_i + \text{metodo}_j + (\text{variedad} \times \text{metodo})_{ij} + e_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = rendimiento y composición química

μ = media general

variedadⁱ= efecto de la variedad

metodo^j= efecto del método

(variedad x método)^{ij}= efecto de la variedad por el método

Los datos de producción de gas fueron analizados mediante el procedimiento GLM con el programa SAS (1999) de acuerdo con el modelo:

$$PG_{ijk} = \mu + \text{variedad}_i + \text{tiempo}_j + (\text{variedad} \times \text{tiempo})_{ij} + e_{ijk}$$

Donde

PG_{ijk} =volumen de gas observado

μ = media general

variedad_i= efecto de la variedad i

tiempo_j=efecto del tiempo de incubación j

(variedad x tiempo)_{ij} el efecto de la interacción entre la variedad y el tiempo de incubación.

Los promedios de cada variable ($P < 0.05$) se compararon con la prueba de Tukey (Steel and Torrie, 1997).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los híbridos evaluados presentaron un rendimiento (Cuadro 1) que vario de 58.75 a 90.63 ton/ha de forraje en MF y de 14.1 a 23.1 toneladas en MS, los mayores rendimientos fueron para HIT 13 tanto en fresco como henificado no encontrándose diferencias por tratamiento y variedad ($P > 0.05$); el rendimiento de forraje verde es superior a lo encontrado en diferentes híbridos (Carrillo *et al.*, 2005; González *et al.*, 2005), pero similar a lo citado por Peña *et al.* (2008) y Tovar *et al.* (2006). En cuanto a los rendimientos en MS por ha son similares a lo que encontraron otros autores (Carrillo *et al.*, 2005; González *et al.*, 2005 y Peña *et al.*, 2008) en un rango de 14 a 24 ton MS/ha. El cual puede verse afectado por la variedad, la distancia entre surcos, la densidad de población, el manejo, la fecha de siembra, el estado de madurez (Núñez *et al.*, 2003) y por la viabilidad de la semilla entre otros factores.

En cuanto a la composición química (Cuadro 1) se mostraron diferencias en el contenido de PC en fresco, Cobre fue menor ($P = 0.0148$) con respecto a Pioner y Hit13, para los maíces henificados, el menor contenido de PC ($P = 0.0065$) fue para CLO80001 con respecto al criollo local, el contenido de FND para los maíces en fresco ($P = 0.0001$) fue mayor para Cobre, CML460 y CLO80001 y menor para Pioner, con respecto a los henificados, el menor contenido de FND ($P = 0.0001$) fue para

Pioner, seguido por el criollo local, siendo superiores las variedades Cobre, Hit 13 y CLO80001. Los maíces frescos Cobre, CML460 y CLO80001 presentaron el mayor contenido de FAD ($P=0.0001$) con respecto al criollo local, en cuanto a los henificados, fueron superiores ($P=0.0001$) las variedades Cobre, CML460, Hit13 y CLO80001 con respecto al resto. Los valores de PC son inferiores a los encontrados por Núñez *et al.* (2003) y Antolín *et al.* (2009) quienes obtuvieron valores de 86 a 95.3 g PC/kg de MS, pero superiores en FND y FAD; lo anterior debido principalmente al estado de madurez, ya que se cortaron en forma tardía lo que ocasiona pérdida de proteína y un mayor contenido de pared celular, debido a que las variedades desarrolladas para valles altos son menos susceptibles al acame y dan lugar a incrementos en las concentraciones de pared celular en la hoja bandera y el tallo (Peña *et al.*, 2002), sin embargo, genotipos más tardíos tienden a producir mayor cantidad de pared celular y menor digestibilidad con respecto a los precoces (Peña *et al.*, 2002); en cuanto a la cantidad de EM y ENI, fueron superiores ($P<0.0001$) las variedades criollo local y pioner, los cuales fueron similares a los obtenidos por Estrada *et al.* (2006) (9.6 a 10.5 Mj EM/kg MS), pero son inferiores a los reportados por Johnson *et al.* (2003) (11.26 a 11.93 Mj EM/kg MS); en cuanto a la concentración de ENI los valores son superiores a los encontrados por Calabro *et al.* (2007) (4.16 Mj ENL/kg MS), y similares a los reportados por Núñez *et al.* (2003) (5.02 a 6.69 Mj ENL/kg MS), pero inferiores a los encontrados por Johnson *et al.* (2003) (6.48 a 6.78 Mj ENL/kg MS), en México el contenido de energía en los maíces es menor que en otros países, esto se atribuye a que se ha dado mayor importancia al rendimiento por hectárea que al valor nutritivo (Núñez *et al.*, 2003).

En el Cuadro 2 se aprecia la producción de *gas in vitro* (ml gas / g MS) acumulada, donde no se observaron diferencias para la producción total de gas entre variedades en fresco ($P=0.1384$) y heno ($P=0.8383$), con respecto a la fracción c, el maíz fresco CLO80001 fue superior ($P=0.0264$) con respecto a Cobre, en cuanto a henificados, CDMO fue superior ($P= 0.0456$) a CML460, para la fracción lag time en fresco, las variedades Pioner, Hit13 y CLO80001 fueron superiores ($P=0.0057$)

a Cobre, no mostrando diferencias para los henificados ($P=0.2523$), estos resultados concuerdan con los reportados por Hetta *et al.* (2012) quienes no encontraron diferencia en la producción de gas de tres híbridos a las 72 horas de incubación, de igual forma Antolín *et al.* (2009) e Islam *et al.* (2012) no encontraron diferencias en la producción de gas, sin embargo Calabro *et al.* (2005) encontraron diferencias ($P<0.05$) en la producción de gas de 300 a 400 ml de gas en ensilados de maíz frescos incubados a 120 horas. En cuanto a la MSd para los maíces frescos las variedades Pioneer y Hit13 fueron superiores en 7.6 ± 0.67 puntos ($P=0.0005$) al Criollo local y CDMO, respectivamente, sin embargo para los maíces henificados, la MSd fue superior ($P=0.0001$) para las variedades criollo local y CDMO en 13.6 ± 0.05 , 15.9 ± 0.05 , 16.2 ± 0.05 y 20.2 ± 0.05 puntos con respecto a las variedades CML460, Cobre, CLO80001 y Hit 13 respectivamente, en cuanto la FNDd para las maíces fresco, las variedades Cobre, CML460 y CLO80001 > Criollo amarillo, Hit 13 y CDMO > Pioneer ($P=0.0001$), con una diferencia en 13.4 y 24.3 puntos respectivamente, la FNDd para los maíces henificados, las variedades Cobre, CML460, Hit13 y CLO80001 fueron superiores ($P=0.0038$) en 13.3 puntos a Pioneer, en cuanto a la PGR para los maíces frescos la variedad criollo local fue superior ($P=0.0057$) a CML460, no mostrando diferencias ($P=0.1277$) para las variedades henificadas.

4. CONCLUSIONES

El rendimiento y la producción de gas in vitro no se vieron afectados por el método de conservación; las diferencias en la composición química pueden estar asociadas al estado de madurez de la planta y a la cantidad de grano presente, la producción de gas relativa fue mayor para los maíces conservados en fresco. De acuerdo con los resultados obtenidos las variedades Pioneer y Hit 13 son superiores con respecto al resto de las variedades estudiadas.

5. BIBLIOGRAFIA

Antolín D. M. González Ronquillo M. Goñi C. S. Domínguez V. I. A. Ariciaga G. C. (2009). Rendimiento y producción de gas in vitro de maíces híbridos conservados por ensilaje o henificado. Tec Pecu Méx. 47, 4, 413-423.

AOAC. (1991). Official methods of analysis, Helrich editor., 15th ed. INC. VA, USA: Association of Official Analytical Chemist. (2).

Calabro S. Cutrigneli M. I. Piccolo G. Bovera F. Zicarelli F. Gazaneo M. P. Infascelli F. (2005). In vitro fermentation kinetics of fresh and dried silage. Anim Feed Sci Tech. (123-124)129-137.

Calabro S. Tudisco R. Grossi M. Bovera F. Cutrignelli M.I. Guglielmelli A. Piccolo V. Infascelli F. (2007). In vitro fermentation characteristics of corn and sorghum silage. Ital J Anim Sci. 6 suppl 2, 559-562.

Estrada Flores J. G. González Ronquillo M. Mould F. L. Arriaga Jordán C. M. Castelán Ortega O. A. (2006). Chemical composition and fermentation characteristics of grain and different parts of the stover from maize land races harvested at different growing periods in two zones of central Mexico. Anim Sci 2006. 82, 845-852.

Getachew G. Blummel M. Makkar H. P. S. Becker K. (1998). In vitro gas measuring techniques for assessment of nutrition quality of feeds: a review. Anim Feed Sci Tech. 72, 261-281.

Gonzalez Ronquillo M. Fondevilla M. Barrios U. A. Newman Y. (1998). In vitro gas production from buffel grass (*Cenchrus ciliaris L*). Fermentation in relation to the cutting interval, the level of nitrogen fertilization and the season of growth. Anim Feed Sci Tech. 72, 19-35.

González C. F. Peña R. A. Nuñez H. G. Jimenez G. C. A. (2005). Efecto de la densidad y altura de corte en el rendimiento y calidad del forraje de maíz; Revista Fitotecnia Mexicana. 28, 393-397.

Hetta M. Mussadiq Z. Gustavsson A. M. Swensson C. (2012). Effects of hybrid and maturity on performance and nutritive characteristics of forage maize at high latitudes, estimated using the gas production technique; *Animal Feed Science and Technology*. 171, 20-30.

Ivan S.K. Grant R.J. Weakley D. Beck J. (2005). Comparison of a corn silage hybrid with high cell-wall content and digestibility with hybrid of lower cell-wall content on performance of Holstein cows. *J Dairy Sci*. 88, 244-254.

Islam M. R. Garcia S. C. Horadagoda A. (2012). Effects of irrigation and rates and timing of nitrogen fertilizer on dry matter yield, proportions of plant fractions of maize and nutritive value and *in vitro* gas production characteristics of whole crop maize silage. *Anim Feed Sci Tech*. 172, 125-135.

Johnson L. M. Harrison J. H. Davidson D. Mahanna W.C. Shinnors K. (2003). Corn silage management: Effects of hybrid, chop length and mechanical processing on digestion and energy content. *J Dairy Sci*. 86, 208-231.

Krishnamoorthy U. Soller H. Menke K. H. (1991). A comparative study on rumen fermentation or energy supplements *in vitro*. *J. Anim. Phys Anim Nutr*. 65, 28-35.

<http://sedagrotecnologia.wordpress.com/tag/maiz/> (disponible 08 de diciembre 2011, Estado de México 2010).

<http://www.siap.sagarpa.gob.mx/> (disponible 20 de junio 2012, SAGARPA 2010).

Menke K. H. Steingass H. (1988). Stimulation of the energy fed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim Res Dev*. 28, 7-12.

Shaista Naqvi. Koreen Ramessar. Gemma Farre. Maite Sabalza. Bruna Miralpeix. Richard M. Twyman. Teresa Capell. Changfu Zhu. Paul Christou. (2011). High-value products from transgenic maize. *Biotech Adv*. 29, 40-53.

Núñez H. G. Contreras G. E. F. Faz C.R. (2003). Características agronómicas y químicas importantes en híbridos de maíz para forraje con alto valor energético. *Téc Pecu Méx.* 41,1, 37-48.

Peña R. A. Núñez H. G. González C. F. (2002). Potencial forrajero de poblaciones de maíz y relación entre atributos agronómicos con la calidad. *Téc Pecu Méx.* 40, 3, 215-228.

Peña R.A. González C. F. Núñez H. G. Preciado O. R. Terrón I. A. Luna F. M. (2008). H-376, híbrido de maíz para producción de forraje y grano en el bajío y la región norte centro de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 31, 001, 85-87.

SAS Statistical Analysis system Institute. (1999). *User's Guide: Statistics version 8*, Cary, NC. USA.

Steel R .G. D. Torrie J. H. (1997). *Principles and procedures of statistics a biomedical approach* (2nded). New York, NY: Mc Graw Hill Book Co.

Theodorou M. K. Williams B. A. Dhanoa M. S. McAllan A. B. France J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim Feed Sci Tech.* 48, 185-197.

Van Soest P. J. Robertson J. B. Lewis B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597.

CUADRO 1 Rendimiento (ton MF y MS/ha) y composición química (g/kg MS) de variedades de maíces amarillos.

	Criollo local	Cobre	CML 460	Pioner	Hit 13	CLO 80001	CDMO	EEM	P<
Rendimiento, ton/ha									
MF	68.13	81.88	89.38	58.75	90.63	68.13	81.88	8.60	0.1230
MS	14.10	21.78	21.27	18.21	23.11	17.17	20.30	2.14	0.1024
Energía, Mj/Kg MS									
¹ EM	10.24 ^d	9.62 ^e	9.56 ^e	10.06 ^d	9.60 ^e	9.59 ^e	9.90 ^{de}	0.09	0.0001
² EN _L	6.15 ^d	5.72 ^e	5.68 ^e	6.03 ^d	5.70 ^e	5.70 ^e	5.92 ^{de}	0.06	0.0001
Composición química de maíces en fresco, g/kg de MS									
MO	92.97 ^h	94.39 ^{ef}	93.44 ^{gh}	95.62 ^d	94.84 ^{de}	96.02 ^d	94.15 ^{efg}	0.21	0.0002
PC	59.10 ^{de}	47.87 ^e	56.53 ^{de}	69.71 ^d	69.24 ^d	56.03 ^{de}	58.78 ^{de}	3.60	0.0148
FND	580.01 ^e	698.97 ^d	673.20 ^d	512.09 ^f	594.78 ^e	691.62 ^d	588.13 ^e	7.86	0.0001
FAD	287.43 ^f	338.04 ^d	334.03 ^d	297.24 ^{ef}	321.45 ^{de}	328.04 ^d	318.10 ^{de}	5.35	0.0001
LAD	39.51 ^{efg}	62.01 ^{efg}	53.88 ^{def}	33.81 ^g	52.11 ^{defg}	37.88 ^{fg}	39.33 ^{efg}	4.50	0.0403
Composición química de maíces henificados, g/kg de MS									
MO	93.62	89.41	94.87	96.01	92.17	95.37	94.87	1.80	0.2704
PC	74.69 ^d	57.88 ^{de}	59.44 ^{de}	59.02 ^{de}	58.03 ^{de}	57.88 ^e	60.23 ^{de}	4.86	0.0065
FND	613.11 ^e	674.36 ^d	672.76 ^{de}	571.21 ^f	669.63 ^d	677.64 ^d	594.81 ^{ef}	7.48	0.0001
FAD	309.42 ^e	345.46 ^d	357.25 ^d	324.16 ^e	364.83 ^d	359.44 ^d	325.44 ^e	3.97	0.0001
LAD	54.00 ^{def}	63.61 ^d	60.62 ^d	48.49 ^{defg}	65.43 ^d	55.95 ^{de}	56.17 ^{de}	2.10	0.0014

^{def}Letras diferentes en la misma columna, son estadísticamente diferentes (P<0.05). EM=Energía Metabolizable (MJ/kg MS), ENL=Energía Neta para Lactación (Mj/kg MS), MO=Materia Orgánica, PC=Proteína Cruda, FND=Fibra Neutro Detergente, FAD=Fibra Acido Detergente, LAD=Lignina acido detergente.

CUADRO 2 Producción de *gas in vitro* (ml gas / g MS) acumulada de maíces amarillos en fresco y henificados, utilizando la ecuación propuesta por Krishnamoorthy et al. (1991).

	Criollo local	Cobre	CML 460	Pioner	Hit 13	CLO 80001	CDMO	EEM	P<
Producción de gas <i>in vitro</i> fresco									
b	336.37	376.35	336.47	339.49	342.57	341.32	340.11	9.918	0.1384
c	0.0473 ^{de}	0.0393 ^e	0.043 ^{de}	0.0527 ^{de}	0.0506 ^{de}	0.0546 ^d	0.0453 ^{de}	0.002	0.0264
Lag time	1.17 ^{de}	1.17 ^e	1.60 ^{de}	1.76 ^d	1.69 ^d	1.68 ^d	1.64 ^d	0.086	0.0057
MSd	59.16 ^e	62.68 ^{de}	64.16 ^{de}	66.02 ^d	67.36 ^d	65.52 ^{de}	58.99 ^e	1.514	0.0005
FNDd	43.70 ^e	61.56 ^d	59.55 ^d	35.41 ^f	48.22 ^e	58.03 ^d	46.92 ^e	0.993	0.0001
PGR	420.21 ^d	404.21 ^{de}	373.23 ^e	389.27 ^{de}	383.94 ^{de}	406.70 ^{de}	417.32 ^{de}	9.323	0.0047
Production de gas <i>in vitro</i> heno									
b	331.21	318.21	355.59	387.19	347.89	337.61	324.67	35.09	0.8383
c	0.0374 ^{de}	0.0336 ^{de}	0.0278 ^d	0.0333 ^{de}	0.0311 ^{de}	0.0337 ^{de}	0.0443 ^d	0.029	0.0456
Lag time	1.6091	1.5908	1.9111	2.0081	1.2368	1.4730	1.5566	0.211	0.2523
MSd	67.89 ^d	52.06 ^f	54.37 ^{ef}	63.24 ^{de}	47.71 ^f	51.77 ^f	67.99 ^d	2.574	0.0001
FNDd	52.10 ^{de}	58.64 ^d	56.58 ^d	43.00 ^e	56.32 ^d	53.78 ^d	48.59 ^{de}	1.805	0.0038
PGR	311.01	344.78	345.90	364.96	364.74	379.45	342.97	16.70	0.1277

^{def}Letras diferentes en la misma columna, son estadísticamente diferentes (P<0.05). b= producción total de gas (ml gas g¹ MS incubada); c= tiempo de fermentación (h¹), lag time (h¹); MSd= materia seca desaparecida (mg/ 100 mg) a las 30 horas; PGR= producción de gas relativa (ml gas g¹ MSd).

8.5. RESULTADOS ADICIONALES

8.5.1. Participación en eventos académicos.

Asistencia a la XLVI reunión nacional de investigación pecuaria Campeche 2010, con el trabajo titulado “Rendimiento y composición química de maíces híbridos de valles altos en fresco o henificados” en la modalidad de cartel; Campeche, Campeche; 22 al 27 de Noviembre 2010.

Asistencia al octavo simposio internacional sobre alimentación de herbívoros, con el trabajo titulado “Rendimiento, composición química y producción de gas in vitro de ocho variedades de maíces híbrido en fresco y henificados, cultivados en valles altos” en la modalidad de cartel; Aberyswyth, Wales, UK, 03 al 09 de septiembre de 2011.

Participación en la XVI Conferencia Internacional de Ensilados con el trabajo “efecto de la adición de ácido acético o bacterias ácido lácticas y enzimas en la composición química y la producción de gas in vitro de ensilados de diferentes variedades de maíces híbridos” en la modalidad de cartel; Helsinki Finlandia, 2012.

8.5.2. Estancia de investigación.

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología con el objetivo de impulsar la formación de capital humano permite a los becarios realizar estancias de investigación en instituciones tanto nacionales como extranjeras, para participar con investigadores de otras instituciones en proyectos de investigación relacionados con el área de trabajo, así como desarrollar o reforzar técnicas que permitan un mejor desempeño, y establecer vínculos interinstituciones para el desarrollo de proyectos de colaboración.

La estancia de investigación se desarrollo en el North Florida Research and Education Center (NFREC) de la Universidad de Florida, el cual tiene programas de investigación y extensión diseñados para apoyar a los productores de la zona de influencia en un manejo mas eficiente y rentable de los recursos tomando en cuenta la conservación del medio ambiente.

OBJETIVOS

Determinar el efecto de la inclusión de la hoja de *Prunus virginiana* en la producción de gas *in vitro*.

Determinar el efecto de la inclusión de la hoja de *Prunus virginiana* en la producción de gases de efecto invernadero.

TECNICAS DESARROLLADAS

Batch Culture

Medición de metano

Medición de H₂S

Medición de NH₃-N

Determinación de Ácidos Grasos Volátiles con etil acetato.

RESULTADOS

Como resultados de la estancia de investigación se obtuvieron los datos para la posible publicación de un artículo científico

IX DISCUSION GENERAL

El rendimiento y la composición química dependerán principalmente de la variedad genética del maíz empleado (Kennington *et al.*, 2005) y pueden verse afectados por la distancia entre surcos, la densidad de población, el manejo, la fecha de siembra y el estado de madurez (Núñez *et al.*, 2003) entre otros factores.

En diversos estudios realizados con híbridos de maíz (Allen *et al.*, 1995, Thomas *et al.*, 2001, Kennington *et al.*, 2005) encontraron diferencias en los contenidos de proteína, fibra y digestibilidad. Los valores de PC obtenidos son inferiores a los encontrados por Núñez *et al.* (2003) y Antolín *et al.*, (2009), pero superiores en FND y FAD lo anterior debido principalmente al estado de madurez, ya que se cortaron en forma tardía lo que ocasiona pérdida de proteína y un mayor contenido de pared celular, debido a que las variedades desarrolladas para valles altos son menos susceptibles al acame y dan lugar a incrementos en las concentraciones de pared celular en la hoja bandera y el tallo (Peña *et al.*, 2002), los genotipos tardíos tienden a producir mayor cantidad de pared celular y menor digestibilidad con respecto a los precoces (Peña *et al.*, 2002); en cuanto a la cantidad de EM, se obtuvieron valores similares a los obtenidos por Estrada *et al.*, (2006), pero inferiores a los reportados por Johnson *et al.*, (2003) y para la concentración de ENI los valores son superiores a los encontrados por Calabro *et al.*, (2007), similares a los reportados por Núñez *et al.* (2003), pero inferiores a los encontrados por Johnson *et al.* (2003), en México el contenido de energía en los maíces es menor que en otros países, esto se atribuye a que se ha dado mayor importancia al rendimiento por hectárea que al valor nutritivo (Núñez *et al.*, 2003).

En la producción de *gas in vitro* (ml gas / g MS) acumulada para los híbridos blancos, se observaron diferencias para la producción total de gas entre variedades ($P < 0.05$), estos resultados difieren de los reportados por Hetta *et al.* (2012) quienes no encontraron diferencia en la producción de gas de tres híbridos a las 72 horas de incubación, de igual forma Antolin *et al.* (2009) e Islam *et al.* (2012) no encontraron diferencias en la producción de gas, sin embargo Calabro *et al.* (2005) encontraron diferencias ($P < 0.05$) en la producción de gas de 300 a 400 ml de gas en ensilados de maíz frescos; mientras que para los híbridos amarillos en la producción de *gas in vitro* (ml gas / g MS) acumulada, no se observaron diferencias para la producción total de gas entre variedades.

El análisis factorial de componentes principales, nos muestra tres factores que en conjunto representan el 85.6% de la varianza total: el factor 1 se refiere al contenido de energía con una correlación negativa con el contenido de fibra, el factor 2 se refiere al componente relacionado con el contenido de proteína cruda y la lignina y el factor 3 relacionado con la cantidad de materia orgánica y la degradabilidad in vitro del ensilaje de maíz; el análisis de conglomerados muestra la presencia de cuatro grupos, con diferentes características entre los grupos. Los grupos (G) de acuerdo a sus características fueron: G1 (ensilajes energéticos), G2 (ensilajes proteicos), G3 (ensilajes de fácil degradabilidad), y G4 (ensilajes equilibrados).

El grupo 1 se caracteriza por una mayor EM y ENI y menor contenido de PC, FND, FAD y LAD, este presenta el número más bajo de casos con las variedades H47 y Pioneer 1832; valores semejantes fueron encontrados por Corral *et al.*, (2011). El Grupo 2 tenían la fracción b más baja y menor cantidad de FND y la mayor cantidad de PC y LAD, e incluyó las variedades Cromo, H66 y Victoria. Kung *et al.*, (1993) no encontraron diferencias en el contenido de PC en los ensilajes de maíz, por otro lado, Ruiz *et al.*, (2009) encontraron diferencias en el contenido de PC en diferentes variedades y tratamientos de ensilajes de maíz. El Grupo 3 mostró el más alto contenido de MO y la fracción b, pero tuvo los valores más bajos reportados para FAD, PC, EM y EN; este grupo incluye las variedades Cobre y Hit7; hubo diferencias para el contenido de MO ($P = 0,01$) entre los tratamientos. Ruiz *et al.*, (2009) reportan diferencias en el contenido de materia orgánica de las diferentes variedades de maíz para ensilaje, similar al presente estudio. Colombatto *et al.*, (2003) encontraron diferencias en el contenido de MO en los ensilajes de maíz tratados con enzimas en comparación con el grupo control, con valores más altos que el presente estudio.

Finalmente G4 mostro los ensilajes equilibrados incluyendo las variedades Búho, H40, H70 y Cromo. Hubo diferencias entre los tratamientos ($P < 0,05$) y las interacciones ($P < 0,05$), Los tratamientos AAC y ENZ en G2 y G3 fueron más altos en el contenido de PC que el resto de los tratamientos, los tratamientos con ENZ en G1, G2 y G3 tuvieron el mayor contenido de FNN ($P < 0,01$); EM y ENL fue mayor para G1 tratado con AAC, ENZ y CTR y G2 CTR que el resto de los tratamientos, el pH más bajo ($P < 0,01$) fue para G2 y

G4 tratado como CTR y AAC en comparación con G1 y G2 tratado con AAC y ENZ; la producción de gas in vitro (ml gas / g MS) fue mayor ($P < 0,05$) para G3 y G4 tratados con enzimas en comparación con G1 CTR y AAC. No hubo diferencias ($P > 0,05$) para la digestibilidad in vitro de materia seca, pero la digestibilidad de la FDN fue mayor ($P < 0,01$) para G1 tratado con CTR, AAC y ENZ, G2 tratado con CTR y G4 tratado con ENZ que el resto de los tratamientos.

X. CONCLUSIONES GENERALES

La producción de gas *in vitro* y la composición química se vieron afectados por el método de conservación; las diferencias en la composición química pueden estar asociadas al estado de madurez de la planta; la producción de gas *in vitro* fue mayor para los maíces conservados en fresco. De acuerdo con los resultados obtenidos las variedades de maíces híbridos blancos H51EA, H47E y CLB y las variedades de maíces híbridos amarillos Pioneer y Hit 13 son superiores con respecto al resto de las variedades estudiadas.

El estudio muestra cuatro grupos: ensilados energéticos (variedades H47 y Pioneer), ensilados proteicos (variedades Cromo H66 y Victoria), ensilados de fácil degradabilidad (variedades Cobre y HIT7) y ensilados balanceados (variedades BUHO, H40 y H70) los cuales de acuerdo a sus características nutritivas pueden ser usados en la alimentación del ganado.

El valor nutritivo y la fermentación del ensilado del maíz pueden ser mejorados con el tratamiento de aditivos químicos o enzimas. La inoculación del ensilado de maíz con ácido acético o enzimas incrementa la digestibilidad de la FND y la disponibilidad de la EM.

XI. BIBLIOGRAFIA

Adesogan, A. T., and M. B. Salawu., 2004. Effect of applying formic acid, or *Lactobacillus buchneri* inoculants with or without homofermentative lactic acid bacteria on the fermentation characteristics and aerobic stability of intercropped pea-wheat silages and whole crop wheat or pea silages. *J. Sci. Food Agric.* 84, 983-992.

Adesogan, AT, 2006. Factors affecting corn silage quality in hot, humid climates. Proceedings of 17th annual Florida ruminant nutrition Symposium, Gainesville, Florida. Jan. 2006, PP:108-119.

Adesogan, AT; Kim, SC; Dean, DB and Staples, CR, 2007. Strategic addition of dietary fibrolytic enzymes for improved performance of lactating dairy cows. Proceedings of 18th annual Florida ruminant nutrition. Symposium, Gainesville, Florida. Jan. 2007, PP:92-110.

Allen M., Ford S., Harrison J., Hunt J., Lauer J., Muck R., Soderlund S. 1995. Corn silage Production management and feeding. *Amer. Soc. of Agron.*; 42.

Amigot S. L., Basílico J. S., Bottai H., Basílico M. L. Z., Fulgueira C. L. (2005). Estrategias para mejorar la calidad de forrajes. In: Proceedings of the Xth Argentine Congress of Micology, Buenos Aires, Argentina. 125 pp.

Antolín D. M., González Ronquillo M., Goñi C. S., Domínguez V. I. A. Ariciaga G. C. 2009. Rendimiento y producción de gas in vitro de maíces híbridos conservados por ensilaje o henificado. *Tec. Pecu. Méx.* 47, 4, 413-423.

Argumentería G. A., B. de la Roza, A. Martinez, L. Sanchez y A. Martinez. 1997. El ensilado en Asturias. Centro de Investigación Aplicada y Tecnología Agroalimentaria (CIATA), p. 1-127.

Arellano VJL., Virgen VJ., Ávila PMA., 2010. H66 híbrido de maíz para los valles altos de los estados de México y Tlaxcala. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.* 1-2:257-262.

Calabro S. Cutrigneli M. I. Piccolo G. Bovera F. Zicarelli F. Gazaneo M. P. Infascelli F. 2005. In vitro fermentation kinetics of fresh and dried silage. *Anim. Feed Sci. Tech.* (123-124)129-137.

Calabro S. Tudisco R. Grossi M. Bovera F. Cutrignelli M.I. Guglielmelli A. Piccolo V. Infascelli F. 2007. In vitro fermentation characteristics of corn and sorghum silage. *Ital. J. Anim. Sci.* 6 suppl 2, 559-562.

Carro, M.D., López, S., González, J.S., Ovejero, F.J. 1994. Comparison of laboratory methods for predicting digestibility of hay in sheep. *Small Rumin. Res.* 14: 9-17.

Castra O. R., Cox W. J., Cherney J. H. 1997. Factors affecting maize forage quality development in the northeastern USA. *Agron. J.* 89:251-256.

Cherney J. H. (2000). Forage quality in perspective. Disponible en línea: <http://www.forages.psu.edu=agfacts/agfact30.pdf>. consultado el 20 de Diciembre 2013.

Church, D. C., Pond, W. G., Pond, K. R. 2002. *Fundamentos de Nutrición y Alimentación de Animales*. 2da ed. Uteha Wiley. pp. 332-333.

Coelho, M., Hembry, F. C., Barton; E. E. Saxton; A. M. 1998. A comparison of microbial, enzymatic, chemical and near-infrared reflectance spectroscopy method in forage evaluation. *Anim. Feed Sci. tech.* 20:219-231.

Colombato D.F., Mould M.K., Bhat R.H., Phipps, Owen E., 2003. In vitro evaluation of fibrolytic enzymes as additives for maize (*Zea mays* L.) silage. II: Effects on rate of acidification, fiber degradation during ensiling and rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Tech.* 111, 129-143.

Cone, J. W., Van Gelder, A. H., Visscher, G. J. W., Oudshoorn, L. 1996. Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus, *Anim. Feed Sci. tech.* 61, 113-128.

Corral LA., Domínguez DD., Rodríguez AFA., Villalobos VG., Ortega GA., Muro RA., 2011. Composición química y cinética de degradabilidad de ensilaje de maíz convencional y sorgo de nervadura café. *Revista Brasileira de Ciências Arícolas.* 6, 181-187.

Dewhurst, R. J., Hepper, D. Webster J. F., 1995. Comparison of in sacco and in vitro techniques for estimating the rate and extent of rumen fermentation of range of dietary ingredients. *Anim. Feed Sci. tech.* 51:211-229.

Driehuis F., Oude Elferink SJWH. & Spoelstra, S. F. 1997. Inoculation of silage with strain of *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. Abstract 3.18. In. workshop Proc. Lactic 97. Caen, France, 10-12 September 1997.

Driehuis F., Oude Elferink SJWH. & Spoelstra, S. F. 1999. Anaerobic lactic acid degradation in maize silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *J. Appl. Microbiol.*, 87: 583-594.

Driehuis F., Oude Elferink SJWH. 2000. The impact of the quality of silage on animal health and food safety: A review. *Veterinary Quarterly.* 22-4: 212-216.

Duthil, J. 1989. *Producción de forraje*. Madrid: Mundi-Prensa.

Enrique ASP y Reinaldo FF, 2006. Conservación de forrajes: segunda parte. *Revista electrónica de veterinaria* 11:3-37.

Escamilla Gallegos J. I. 2000. Cap I. Clasificación de los alimentos, en: División sistema Universidad abierta y Educación a distancia: Alimentación animal, forrajes y concentrados Bovinos. Ángeles Campos, S., Corona Gochi, L., Escamilla Gallegos, J.I., Melgarejo Vázquez, L.G. y Spross Suarez K. Ed.UNAM. pp1-26

Estado de México, 2010. <http://sedagrotecnologia.wordpress.com/tag/maiz/> (disponible 08 de diciembre 2011).

Estrada Flores J. G. González Ronquillo M. Mould F. L. Arriaga Jordán C. M. Castelán Ortega O. A. 2006. Chemical composition and fermentation characteristics of grain and different parts of the stover from maize land races harvested at different growing periods in two zones of central Mexico. *Anim. Sci.* 2006. 82, 845-852.

FAOSTAT (Food and Agriculture Organization), © FAO Statistics Division 2010.

Filya I. 2002.The Effects of Lactic Acid Bacteria and Lactic Acid Bacteria+Enzyme Mixture Silage Inoculantson Maize Silage.*Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 26: 679-687.

Filya I. 2002.The Effects of Lactic Acid Bacterial Inoculants on the Fermentation, Aerobic Stability and insitu Rumen Degradability Characteristics of Maize and Sorghum Silages. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 26:815-823.

Filya I., Sucu E., Karabulut A., 2006. The effect of *Lactobacillus buchneri* on fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of maize silage.*Journal of Applied Microbiology.* 101, 1216-1223.

Fondevilla, M. y A. Barrios. 2001. La técnica de producción de gas y su aplicación al estudio del valor nutritivo de los forrajes. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola.* 353, 197-206.

France J, Dhanoa MS, Theodorou MK, Lister SJ, Davis DR, Isac D. 1993.A model to interpret gas accumulation profiles associated with *in vitro* degradation of ruminant feed. *Journal of Theoretical Biology.* 163:99-111.

Fulgueira L. C., Amigot L. S., Gaggiotti M., Romero A. L., Basílico C. J. 2007. Forage Quality: Techniques for testing. *Fresh Produce.* 1(2):121-131.

Getachew G., Blummel M., Makkar H.P.S., Becker K., 1998. In vitro gas measuring techniques for assessment of nutrition quality of feeds: a review. *Anim. Feed Sci. Tech.* 72, 261-281.

Glewen, M. J., & Young, A. W. 1982.Effect of ammoniation on the re-fermentation of corn silage. *J. Anim. Sci.*, 54:713-718.

Goering, H. K., Van Soest, P. J. 1970. Forage Fiber analyses: Apparatus, Reagents, Procedures, and some Applications. Agric. Handbook No.379, ARS-USDA, Washington. DC.

González C. F. Peña R. A. Núñez H. G. Jiménez G. C. A. 2005. Efecto de la densidad y altura de corte en el rendimiento y calidad del forraje de maíz; Revista Fitotecnia Mexicana. 28, 393-397.

Graybill V. S., W. J. Cox, D. J. Otis. Yield and quality of forage maize as influenced by hybrid, plant data, and plat density. Agronomic Journal. 83:559-564.

Hetta M. Mussadiq Z. Gustavsson A. M. Swensson C. 2012. Effects of hybrid and maturity on performance and nutritive characteristics of forage maize at high latitudes, estimated using the gas production technique; Anim. Feed Sci. Tech. 171, 20-30.

Honig, H., & Woolford. M. K. 1980. Changes in silage on exposure to air. P. 76-87, in: C. Thomas (ed) Forage conservation in the 80s. BGS Occasional Symposium, No. 11. Hurley, UK: British Grassland Society.

Islam M. R. García S. C. Horadagoda A. 2012. Effects of irrigation and rates and timing of nitrogen fertilizer on dry matter yield, proportions of plant fractions of maize and nutritive value and *in vitro* gas production characteristics of whole crop maize silage. Anim. Feed Sci. Tech. 172, 125-135.

Ivan S.K., Grant R.J., Weakley D., Beck J., 2005. Comparison of a corn silage hybrid with high cell-wall content and digestibility with hybrid of lower cell-wall content on performance of Holstein cows. J. Dairy Sci. 88, 244-254.

Jessop NS and Herrero M. 1996. Influence of soluble components on parameter estimation using the *in vitro* gas production technique. Anim. Sci. 62:626-627.

Jonsson, A., Lindberg, H., Sundas, S., Lingvall, P., & Lindgren, S. 1990. Effect of Additives on quality of big-bale silages. Anim. Feed Sci. Tech., 31: 139-155.

Johnson L.M., Harrison J.H., Davidson D., Mahanna W.C., Shinnors K., 2003. Corn silage management: Effects of hybrid, chop length and mechanical processing on digestion and energy content. J. Dairy Sci. 86, 208-231.

Kaiser, E., & Weiss, K. 1997. Fermentation process during the ensiling of green forage low in nitrate. 2. Fermentation process after supplementation of nitrate, nitrite, lactic-acid bacteria and formic acid. Arch. Anim. Nutr. 50: 187-200.

Krishnamoorthy U., Soller H., Menke K.H., 1991. A comparative study on rumen fermentation or energy supplements *in vitro*. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 65, 28-35.

Kung Jr, Chen JH, Kreck EM, Knutsen K. 1993. Effect of microbial inoculants on the nutritive value of the corn silage for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76: 3763-3770.

Lundvall J. P., Buxton D. R., Hallauer A. R., George J. R. 1994. Forage quality variation among maize inbreds: *in vitro* digestibility and cell wall components. *Crop Sci.* 34:1672-1678.

Makkar, H. P. S., Blummel, M., Borowy, N. K., Becker, K. 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *J. Sci. Food Agric.* 61, 161-165

McDonald P., Henderson A.R., Heron S.J.E., 1991. *The Biochemistry of Silage*. Chalcombe Publications, London, UK, 340 pp.

McDonald, P., Edwards R.A., Greenhalgh J.F.D., Morgan C.A. (2002). *Nutrición animal* 7 ed, Edit. Mc Graw Hill.

Melgarejo Velázquez L. (2000). Cap. II Calidad Nutricia de los forrajes, en: División sistema Universidad abierta y Educación a distancia: Alimentación animal, forrajes y concentrados Bovinos. Ángeles Campos, S., Corona Gochi, L., Escamilla Gallegos, J.I., Melgarejo Vázquez, L.G. y Spross Suarez K. Ed. UNAM. pp 27-49. Ed. UNAM.

Menke K.H., and Steingass H. 1988. Stimulation of the energy fed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28, 7-12.

Menke K. H., Raab L., Salewski, A., Steingass H., Fritz, D., Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *J. Agric. Sci.* 93, 217-222.

Moon, N. J. 1983. Inhibition of the growth of acid-tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. *J. Appl. Bacteriol.*, 55: 454-460.

Mould, F. L. and Nordheim H. 1998. *British Society of Animal Science*. British Society of Animal Science, Reading, UK 22:329-331.

Muck R. E. 1996. A Lactic Acid Bacterial Strain to Improve Aerobic Stability of Silages [en línea] <http://afresweb.usda.gov>. consultado el 15 de Noviembre de 2013.

Muck R. E. 2004. Effects of corn silage inoculants on aerobic stability. *Transactions American Society of Agricultural Engineers.* 4: 1011-1016.

Naqvi S., Ramessar K., Farre G., Sabalza M., Miralpeix B., Twyman MR., Capell T., Zhu C., Christou P., 2011. High-value products from transgenic maize. *Biotechnology advances.* 29:40-53.

Núñez H. G., Contreras G. E. F., Faz C. R. 2003. Características agronómicas y químicas importantes en híbridos de maíz para forraje con alto valor energético. *Téc. Pecu. Méx.*, 41(1):37-48.

Núñez H. G. Faz C. R., González C. F., Peña R. A. 2005. Madurez de híbridos a la cosecha para mejorar la producción y calidad del forraje. *Téc. Pecu. Méx.*, 43(1):69-78.

Orskov, E. R., Mc Donald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rates of passage. *J. Agric. Sci. Camb.* 92, 499-503.

Orskov, E. R., Ryle, M. 1990. *Energy Nutrition in Ruminants*. Elsevier, London. 149 pp.

Oude Elferink S. J. W. H., Driehuis F. and Spoelstra S. F. 1997. Improving aerobic stability of maize silage with heterofermentative lactic acid bacteria as inoculants. In: Jambor V. Klapil L. Chromee P. Prochazca P. eds. *Proceedings of the 8th International Symposium Forage Conservation*. Pohorelice: research Institute of Animal nutrition. 130-131.

Oude Elferink S. J. W. H., Driehuis F. Krooneman J., Gottsehal J. C. and Spoelstra S. F. 1999. *Lactobacillus buchneri* can improve the aerobic stability of silage via a novel fermentation pathway: the anaerobic degradation of lactic acid and 1,2-propanediol. In: Pauly T. ed. *Silage production in relation to animal performance, animal health, meat and milk quality*. Proceedings of the 12th International Silage Conference. Uppsala: Swedish University of Agricultural Science. 266-267.

Peña R. A. Núñez H. G. González C. F. 2002. Potencial forrajero de poblaciones de maíz y relación entre atributos agronómicos con la calidad. *Téc. Pecu. Méx.* 40, 3, 215-228.

Peña R.A. González C. F. Núñez H. G. Preciado O. R. Terrón I. A. Luna F. M. 2008. H-376, híbrido de maíz para producción de forraje y grano en el bajío y la región norte centro de México. *Rev. Fitotec. Mex.* 31, 001, 85-87.

Phillip, L. E., Fellner, V. 1992. Effects of bacterial inoculation of high-moisture ear corn on its aerobic stability, digestion, and utilization for growth by beef steers. *J. Anim. Sci.*, 70: 3178-3187.

Rezende G., R. Andrade, R. Schocken-Iturrino, A. Viera, T. Fernandes y R. Camargo do Amaral. 2007. Perdas de silagens de 63 cana-de-açúcar tratadas com aditivos químicos e bacterianos. *Revista Brasileira de Zootecnia* vol.36, n. 6, p. 2000-2009.

Rider, S. 1997. Forage additives. *Farmers Weekly*, 21 November 1997 (Suppl.): S1-S16.

Rowghani, E. and Zamiri, M. J. 2009. The effects of a microbial inoculants and formic acid as silage additives on chemical composition, ruminal degradability and nutrient digestibility of corn silage in sheep. *Indian Journal of Veterinary Research*. 10 (2):110-118.

Ruiz B.O., Castillo Y., Anchondo A., Rodríguez C., Beltrán R., La O O y Payan J. 2009. Efecto de las enzimas inoculantes sobre la composición del ensilaje de maíz. *Archivos de Zootecnia*. 58 (222):163-172.

SAGARPA 2010. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [en línea] <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/> Consultado 20 de junio 2012.

Sanderson M. A. 1993. Aerobic stability and in vitro fiber digestibility of microbially inoculated corn and sorghum silages. *J. Anim. Sci.* 71:505-514.

SAS Statistical Analysis system Institute. User's Guide: Statistics version 8, Cary, NC. USA. 1999.

Spoelstra, S. F. 1985. Nitrate in silage. A review. *Grass For. Sci.*, 40:1-11.

Spoelstra, S. F. 1987. Degradation of nitrate by enterobacteria during silage fermentation of grass. *Neth. J. Agr. Sci.*, 35: 43-54.

Spross Suarez A.K. 2000. Cap. II. Calidad nutricia de los forrajes, en: División sistema Universidad abierta y Educación a distancia: Alimentación animal, forrajes y concentrados Bovinos. Ángeles Campos, S., Corona Gochi, L., Escamilla Gallegos, J.I., Melgarejo Vázquez, L.G. y Spross Suarez K. Ed. UNAM. pp.27-49.

Taysom D. 2002. US. Dairy Forage Research Center: managing Forage Resources. Disponible en línea: <http://www.ars.usda.gov/Research/docs.htm?docid=11065>. Consultado el 20 de diciembre de 2013.

Theodorou M.K., Williams B.A., Dhanoa M.S., McAllan A.B., France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Tech.* 48, 185-197.

Tilley, J. M. A., Terry, R. A. 1963. A two-stage technique for the digestion of forage crops. *J. br. Grassl. Soc.* 18, 104-111.

USDA (United States Department of Agriculture), Foreign Agricultural Service, Official USDA Estimates.

Van Soest P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cosmotock publishing associates.

Vogel k. P., Pedersen J. f., Masterson S. d. and Toy J. J. 1999. Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. *Crop Sci.* 39:276-279

Weinberg Z.G., and Muck R.E. 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiology Reviews.* 19, 53-68.

Wolf D. P., Coors J. G., Albrecht K. A., Undersander D. J., Carter P. R. 1993. Forage quality of maize genotypes selected for extreme fiber concentrations. *Crop sci.*

Woolford, M. k. 1975a. Microbiological screening of the straight chain fatty acids (C1-C12) as potential silage additives. *J. Sci. Food Agr.*, 26:219-228.

Woolford, M. k. 1975b. Microbiological screening of food preservatives, cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silage additives. *J. Sci. Food Agr.*, 26:229-237.